

Spektroskopie an individuellen chlorosomalen Lichtsammelkomplexen des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum Tepidum*

Der Universität Bayreuth
zur Erlangung des Grades eines
Doktors der Naturwissenschaften (Dr. rer. nat.)
vorgelegte Abhandlung

von

Marc Jendrny

aus

Meppen

1. Gutachter: Prof. Dr. Jürgen Köhler

2. Gutachter: Prof. Dr. Matthias Ullmann

Tag der Einreichung: 20. Mai 2014

Tag des Kolloquiums: 01. August 2014

Inhaltsverzeichnis

1	Einleitung	1
2	Bakterielle Photosynthese	5
2.1	Photosynthese	5
2.2	Grüne Bakterien	6
2.3	Der photosynthetische Apparat grüner Schwefelbakterien	8
2.3.1	Chlorosome	8
2.3.2	Baseplate	14
2.3.3	FMO Komplex	15
2.3.4	Reaktionszentrum	15
2.3.5	Chlorosome der Mutanten des grünen Schwefelbakteriums <i>Chlorobaculum tepidum</i>	16
2.4	Historische Übersicht der Forschung an Chlorosomen	17
3	Theoretischer Hintergrund	32
3.1	Optische Übergänge in Pigmentmolekülen	32
3.2	Linienformen und Verbreiterungsmechanismen	35
3.3	Molekulare Exzitonen	36
3.3.1	J-Aggregate	38
3.4	CD Spektroskopie	42
4	Materialien und Methoden	44
4.1	Setup	44
4.1.1	Das Optische Mikroskop	44
4.1.2	Komponenten	46
4.2	Probenpräparation	50
4.2.1	Wildtyp Chlorosome	50
4.2.2	Chlorosome des <i>bchR</i> Mutanten	51

5	Experimentelle Daten	52
5.1	Vorläufige Messungen	52
5.1.1	Ensemblespektren der Wildtyp <i>Chlorobaculum tepidum</i> Chlorosome . .	53
5.1.2	Ensemblespektren von Chlorosomen des <i>Chlorobaculum tepidum bchR</i> Mutanten	55
5.1.3	Vergleich der Ensemblespektren der Wildtyp und der <i>bchR</i> Mutant Chlorosome	57
5.1.4	Diskussion	58
5.2	Vergleich zwischen Raum- und Tieftemperatur Fluoreszenz-Anregungsspektren einzelner Wildtyp Chlorosome des grünen Schwefelbakteriums <i>Chlorobaculum</i> <i>tepidum</i>	60
5.2.1	Raumtemperatur Spektren	60
5.2.2	Tieftemperatur Spektren	62
5.2.3	Vergleich und Diskussion der Raum- und Tieftemperaturergebnisse .	66
5.3	Globale Analyse der polarisationsaufgelösten Tieftemperatur-Fluoreszenz-An- regungsspektren von Wildtyp <i>Chlorobaculum tepidum</i> Chlorosomen	70
5.3.1	Polarisationsaufgelöste Tieftemperatur-Fluoreszenz-Anregungsspektren	71
5.3.2	Ergebnisse der globalen Analyse	72
5.3.3	Diskussion	74
5.4	Untersuchungen an Chlorosomen des <i>bchR</i> Mutanten des grünen Schwefel- bakteriums <i>Chlorobaculum tepidum</i>	76
5.4.1	Experimentelle Ergebnisse	76
5.4.2	Diskussion	85
6	Simulationen verschiedener J-Aggregate	88
6.1	Berechnungen	89
6.2	Zylindrische Aggregate	91
6.2.1	Zylinderaggregate mit einem Durchmesser von 5,32 nm	93
6.2.2	Zylinderaggregate mit einem Durchmesser von 9,28 nm	99
6.2.3	Doppelwandige Zylinderaggregate	101
6.3	Dreidimensionale Spiralen-Aggregate	106
6.4	Lammellen-Aggregate	110
6.5	Zusammenfassung und Diskussion der Simulationsergebnisse	113

7 Vergleich zwischen Experiment und Simulation	116
7.1 Vergleich der Ergebnisse des <i>Chlorobaculum tepidum</i> Wildtyp mit den Simulationen	119
7.2 Vergleich der Ergebnisse des <i>Chlorobaculum tepidum bchR</i> Mutanten mit den Simulationen	120
7.3 CD Spektren verschiedener Chlorosome des grünen Schwefelbakteriums <i>Chlorobaculum tepidum</i>	121
8 Zusammenfassung	124
9 Summary	127
Literaturverzeichnis	130
Veröffentlichungen	147
Erklärung	148

1 Einleitung

Der Anstieg der Weltbevölkerung und die Entwicklung der Industrie und Weltwirtschaft wird begleitet von einem erhöhten Bedarf an Energie. Im Jahre 2010 betrug der Weltenergiebedarf 505 EJ ($1 \text{ EJ} = 10^{18} \text{ J}$) [1]. Mehr als 400 EJ wurden dazu aus fossilen Brennstoffen, wie beispielsweise Kohle, Öl oder Erdgas gewonnen [1]. Es wird ein massiver Anstieg des Energiebedarfs von 41 % innerhalb einer Zeitspanne von 2012 bis 2035 als Konsequenz des Angleichs des Lebensstandards von Entwicklungs- und Schwellenländern an Industriestaaten erwartet [2]. Eine Prognose der International Energy Agency (IEA) besagt eine Ausschöpfung der Kohlevorräte innerhalb der nächsten 170 Jahre. Der Vorrat an Mineralöl und Erdgas versiegt nach der gleichen Prognose deutlich eher, nämlich innerhalb der nächsten 43 bzw. 66 Jahre [3]. Derzeit werden rund 10 % der benötigten Energie aus alternativen Energieträgern bzw. Biokraftstoffen und ungefähr 1 % durch Photovoltaik, Wind- oder Wasserkraft gewonnen [4]. Täglich erreicht eine Energie von 10 700 EJ durch Solarstrahlung die Erdoberfläche, was dem fast zwanzigfachen jährlichen Weltenergiebedarf entspricht [5] oder anders ausgedrückt: der Weltenergiebedarf kommt der Solarstrahlung einer guten Stunde gleich. Um den ansteigenden Weltenergiebedarf ausreichend zu decken ist es daher sinnvoll erneuerbare Energiequellen zu erforschen und verbessern.

Die Photosynthese ist ein Prozess bei dem mittels Sonnenenergie und verschiedenster, lebensraumabhängiger, meist anorganischer Stoffe biochemische Energie erzeugt wird. Unter der Berücksichtigung, dass sich lebende Organismen seit über 3 Milliarden Jahren der Photosynthese bedienen, um ihren Metabolismus anzutreiben und der Endlichkeit fossiler

Brennstoffvorräte, wäre es der logische Schritt von der Natur vorgegebene Mechanismen zu etablieren unter welchen die Photosynthese das Musterbeispiel darstellt. Die ersten Organismen, deren Metabolismus durch Photosynthese angetrieben wurde waren Bakterien. Diese (bis auf Cyanobakterien) betreiben anoxygene Photosynthese, bei der anstatt Sauerstoff beispielsweise Schwefel oder Sulfate produziert werden [6, 7]. Ihre wichtigsten, lichtabsorbierenden Pigmente sind sogenannte Bakteriochlorophyllmoleküle (BChl Moleküle), die abhängig von der Bakterienspezies in supramolekularen Aggregaten angeordnet sind [8–10]. Bei der bakteriellen Photosynthese wird Licht von Antennenkomplexen der Bakterien absorbiert und über weitere Komplexe (meist Pigment-Protein Komplexe) wird die Energie bis hin zum Reaktionszentrum transferiert, in dem schließlich eine Ladungstrennung stattfindet und freie Energie in Form von ATP bereit gestellt wird [11–13]. Die Verwendung organischer Materie für jegliche solar betriebene Energieerzeugung setzt höchst effiziente Lichtsammelkomplexe voraus, um die Zahl absorbierter Photonen maximieren zu können. Die entscheidenden Aspekte, die für die Solarenergiekonversion relevant sind, ist erstens wie Quenching der angeregten Energieniveaus der Antennenkomplexe vermieden wird, damit die vorhandene Energie für einen Transfer zur Verfügung steht und zweitens wie ein derart effizienter Energietransfer bis hin zum photosynthetischen Reaktionszentrum erreicht werden kann [14].

Eines der effizientesten Antennensysteme, die in der Natur gefunden werden sind sogenannte Chlorosome grüner Schwefel- und Nichtschwefelbakterien, die aus verschiedenen Komponenten bestehen (vgl. Abschnitt 2.3.1). Ihre wichtigste Komponente sind BChl Moleküle, die innerhalb eines Monolipidumschlags zu supramolekularen Strukturen aggregieren und für die Absorption von Photonen verantwortlich sind, damit das Bakterium Photosynthese betreiben kann. Sie erlauben ihm des weiteren das Wachstum in extrem lichtarmen Umgebungen [15–17].

Im Rahmen dieser Arbeit wurden Einzelmolekültechniken und numerische Computer-

simulationen verwendet um photophysikalische und strukturelle Eigenschaften der in Chlorosomen des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum* enthaltenen BChl *c* Molekülaggregate zu ergründen. Erste erlauben die Untersuchung einzelner Komplexe und können Eigenschaften offen legen, die unter Ensembleexperimenten durch Mittelung über eine Vielzahl von Komplexen verborgen bleiben. Simulationen verschiedener Aggregatstrukturen erlauben durch Vergleich mit experimentellen Ergebnissen Rückschlüsse auf die strukturelle Anordnung in Chlorosomen enthaltener Pigmentaggregate. Die Struktur der in Chlorosomen enthaltenen BChl Aggregate ist bis dato nicht geklärt und konnte auch durch Röntgenbeugung nicht vollständig aufgeschlüsselt werden [18, 19].

Der Leitfaden der vorliegenden Arbeit ist wie folgt: Im zweiten Kapitel wird genauer auf den Prozess der Photosynthese eingegangen und in diesem Rahmen werden einzelne Komponenten des Photosyntheseapparates grüner Schwefelbakterien besprochen. Schlussendlich stellt ein chronologischer Überblick die Historie der Forschung an grünen Bakterien und Chlorosomen dar. Der erste Teil des dritten Kapitels fasst die Grundlagen der Spektroskopie kurz zusammen und wird gefolgt von theoretischen Studien an J-Aggregaten, die verwendet werden um supramolekulare BChl Molekülaggregate, wie sie im Inneren von Chlorosomen vorliegen, zu beschreiben. In Kapitel vier wird der verwendete Aufbau beschrieben mit dem größtenteils polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome aufgenommen wurden. Außerdem wird die Probenpräparation beschrieben. Die experimentellen Ergebnisse der Ensemblemessungen und der Messungen an einzelnen Chlorosomen werden in Kapitel fünf besprochen, welches von numerischen Computersimulationen diverser supramolekularer Strukturen, die in Chlorosomen enthaltene BChl Molekülaggregate beschreiben sollen, gefolgt wird. Die grundlegende Anordnung der BChl Moleküle innerhalb der Aggregate basiert dabei auf einer durch NMR Experimente gefundenen Einheitszelle. Die experimentellen und simulierten Ergebnisse werden in Kapitel sieben im Zusammenhang diskutiert. Eine Zusammenfassung und der Abschluss finden sich

im letzten Kapitel dieser Arbeit.

2 Bakterielle Photosynthese

2.1 Photosynthese

Der Prozess, bei dem die Energie des Lichtes in chemische Energie transformiert wird, nennt sich Photosynthese. Pflanze, Algen und einige Bakterienarten bedienen sich der Photosynthese, um in sehr unterschiedlichen Umgebungen zu gedeihen [9, 20]. Jeder dieser Organismen führt den Photosyntheseprozess dabei unterschiedlich aus. In jedem Fall, wird das Licht durch Pigmente, wie z.B. Chlorophyll, Bakteriochlorophyll, Karotinoide etc. absorbiert, die dadurch in elektronisch angeregte Zustände versetzt werden [21–24]. Die dadurch aufgenommene Energie wird dann durch den Photosyntheseapparat des Organismus transferiert, um die biochemische Energie, Adenosintriphosphat (ATP, auch als molekulare Energieeinheit bezeichnet [11, 13]), herzustellen, die notwendig ist, um den Zellmetabolismus zu betreiben [12]. Eine Gesamtreaktion der Photosynthese mit Kohlenstoffdioxid als Ausgangsstoff und H_2A als Reduktans, wobei A stellvertretend für Sauerstoff (O) oder Schwefel (S) steht, wird beschrieben durch Gleichung (2.1).



Hierbei repräsentiert $h\nu$ die Energie des Lichtes. Im Fall von H_2O als Reduktans, wird bei der Photosynthese elementarer Sauerstoff freigesetzt und man spricht dabei von oxygenen Photosynthese, im Fall von H_2S , wird elementarer Schwefel freigesetzt und man bezeichnet

den ablaufenden Prozess als anoxygene Photosynthese. Weitere Details zur Photosynthese werden in den Referenzen [9, 12, 20, 25] beschrieben.

Lebewesen, die Licht als Energiequelle verwenden, werden als phototrophe Organismen bezeichnet und können in zwei Gruppen unterteilt werden: photoautotrophe und photoheterotrophe Organismen. Im Gegensatz zu den Phototautrophen, die CO_2 als Kohlenstoffquelle verwenden, nutzen die Photoheterophen Kohlenhydrate, Fettsäuren und Alkohole [6]. Die meisten Pflanzen, Algen, grüne Schwefelbakterien usw. sind photoautotrophe Organismen, wohingegen grüne nicht-Schwefel Bakterien und nicht-Schwefelpurpurbakterien, Heliobakterien Vertreter der Photoheterophen sind [26]. Einige Vertreter der photoheterotrophen Organismen, wie z.B. Pflanzen, Algen oder Cyanobakterien, betreiben oxygene Photosynthese. Im Gegensatz dazu betreiben z.B. grüne Schwefelbakterien anoxygene Photosynthese [20, 27–29].

Der Vollständigkeit halber müssen noch die chemotrophen Organismen erwähnt werden. Sie ziehen die benötigte Energie durch Oxidation von Elektronendonatoren ihrer Umgebung. Die Chemotrophen verwenden dazu entweder organische oder anorganische Stoffe und werden deshalb als chemoorganotroph bzw. als chemolitotroph bezeichnet [23, 30–33].

2.2 Grüne Bakterien

Bakterien werden unterscheiden durch die Art ihres Metabolismus: phototroph, litotroph oder organotroph. Das bedeutet, dass ihre Energiequelle Sonnenlicht, anorganische und organische Stoffe sind. Sowohl grüne Schwefel- als auch nicht Schwefelbakterien gehören zur Klasse der phototrophen Organismen, genauso wie Cyano- oder Purpurbakterien. Um genauer zu sein sind grüne Schwefelbakterien phototroph [34], wohingegen grüne nicht Schwefelbakterien auf zwei verschiedenen Arten gedeihen können: autotroph und heterotroph [35].

Generell sind grüne Schwefel- und Nichtschwefelbakterien unterschiedlich und gehören zu unterschiedlichen Phyla: *chlorobi* bzw. *chloroflexi*. Allerdings haben die Bakterien beider Stämme ihre einzigartigen Lichtsammelkomplexe, die so genannten Chlorosome (vgl. Kapitel 2.3.1), gemein. Ein weiteres Bakterium, *Candidatus Chloracidobacterium thermophilum* des Stammes *acidobacteria*, wurde unlängst entdeckt [7].

Bakterien des Stammes *chloroflexi* prosperieren in relativ hellem Licht, wie z.B. unter mikrobiellen Matten, nah unter Wasseroberfläche oder zwischen Lagen von Cyanobakterien [35]. Ihr Reaktionszentrum ist vom Pheophytin-Chinon Typ, welches von weiteren, in der zytoplasmatischen Membran eingebetteten Antennenkomplexen umgeben ist [8, 10, 35]. Das beste Beispiel für ein photoautotrophes grünes nicht-Schwefelbakterium ist *Chloroflexus aurantiacus* [36–39]. Spezies grüner Schwefelbakterien leben, im Gegensatz dazu in sehr licht armer, anoxygener, Sulfid reicher Umgebung. Man findet sie unter anderem in einer Tiefe von ca. 110 m bis 120 m im Matano See oder in 80 m Tiefe im schwarzen Meer [35, 40]. Eine weitere Spezies wurde in einer Meerestiefe von 2500 m, in direkter Umgebung einer hydrothermalen Quelle im pazifischen Ozean entdeckt [41]. Grüne Schwefelbakterien besitzen ein Reaktionszentrum vom Fe-S Typ, das durch einen weiteren Antennenkomplex, den FMO Protein-Komplex (benannt nach Fenna, Matthews und Olsen) mit den Chlorosomen verbunden ist [35]. Um in derart lichtarmen Umgebungen zu Überleben zu können benötigen sie deshalb einen Photosyntheseapparat von einmaliger Effizienz.

In dieser Arbeit werden die in Chlorosomen enthaltenen Bakteriochlorophyllaggregate des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum* auf ihre elektronische Struktur untersucht, weshalb im Folgenden der photosynthetische Apparat dieses Stammes genauer erläutert wird.

2.3 Der photosynthetische Apparat grüner Schwefelbakterien

Der photosynthetische Apparat grüner Schwefelbakterien besteht aus Chlorosomen, in deren Monolipidumschlag ein weiterer CsmA-Bchl *a* Protein-Komplex eingebunden ist, dem FMO Pigment-Protein Komplex und einem Reaktionszentrum vom Fe-S Typ. Eine genaue Beschreibung der einzelnen Bestandteile wird im Folgenden gegeben und ein Schema dieses Photosyntheseapparates ist in Abbildung 2.1 dargestellt.

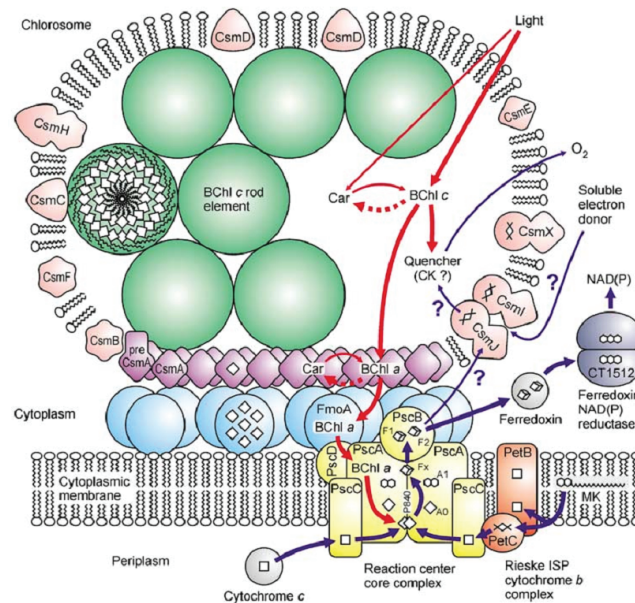


Abbildung 2.1: Schematische Darstellung des photosynthetischen Apparates des grünen Schwefelbakterium *Chlorobaculum tepidum*. Aus [42]

2.3.1 Chlorosome

Chlorosome sind die äußeren Lichtsammelkomplexe der photosynthetischen grünen Bakterien. Sie liegen auf der Innenseite der zytoplasmatischen Membran und haben eine durchschnittliche Länge von 100 nm bis 200 nm, Breite von 50 nm bis 100 nm und Höhe von 20 nm bis 40 nm. Ihre Größen hängen außerdem stark von der jeweiligen Spezies ab [10, 35, 43–46].

Chlorosome grüner Schwefelbakterien umfassen verschiedene Komponenten: 200 000 to 250 000 Bakteriochlorophyll (BChl) Moleküle (BChl *c*, *d* oder *e*, abhängig von der Spezies), 2500 BChl *a* Moleküle, 20 000 Karotinoide, 15 000 Chlorobiumquinone, 3000 Menaquinon-7 Moleküle, 20 000 Lipide und 5000 Proteine [47, 48].

Das Chlorosom ist ummantelt von einem Monolipidumschlag (MDGD: Monogalactosyl Diglycerid), welcher von Proteinen durchsetzt ist. Eines dieser Proteine ist CsmA, das BChl *a* bindet und somit einen Protein-Komplex, die sogenannte Baseplate, formt [34, 45, 49, 50].

Bakteriochlorophyll

Bakteriochlorophyll (BChl) Moleküle sind die wichtigsten Pigmente der Chlorosome. Abbildung 2.2(a) zeigt die grundlegende Struktur eines BChl Moleküls, in der sieben Positionen markiert sind (R_3 , R_7 , R_8 , R_{12} , R_{13} , R_{17} und R_{20}), deren Substituenten modifiziert werden können. Bei der Bindung zwischen den Kohlenstoffmolekülen der Positionen 7 und 8 handelt es sich entweder um eine Einzel- oder eine Doppelbindung.

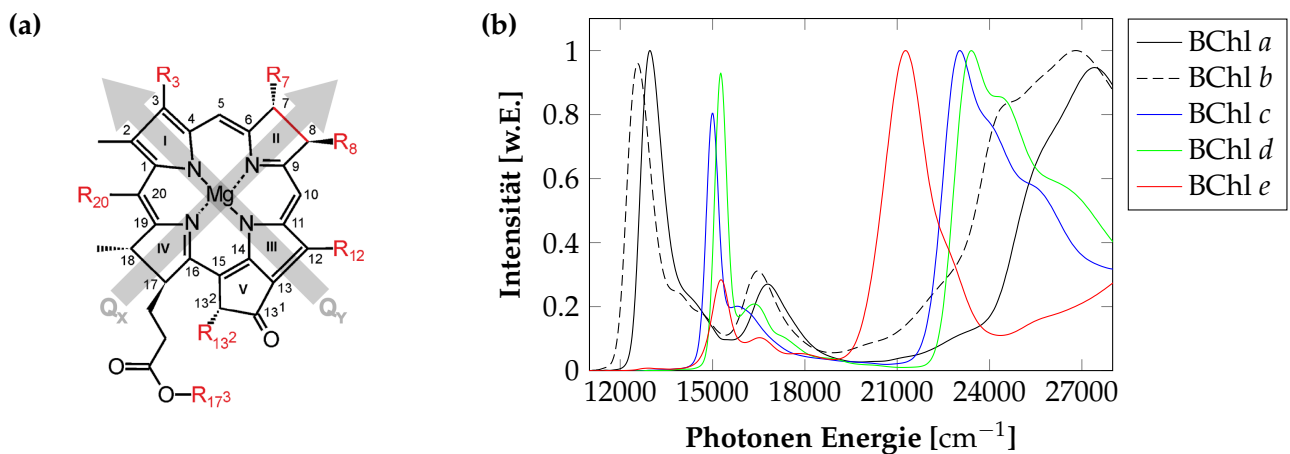


Abbildung 2.2: (a) Strukturelle Basis eines Bakteriochlorophyllmoleküls. Positionen an denen die Seitengruppen variieren sind in rot markiert. Aus [22]. (b) Absorptionsspektren von monomer vorliegenden Bakteriochlorophyllmolekülen. BChl *a* (schwarz, durchgehend), *b* (schwarz, gestrichelt), *c* (blau), *d* (grün) und *e* (rot). Aus [51].

Die strukturelle Basis für BChl *a*, *b* und *g* Moleküle bildet ein Bakteriochlorin Makrozyklus

mit einem zentralen Magnesiumion und zwei reduzierten Pyrrolringen (II, IV) und einer einfachen Bindung zwischen den Kohlenstoffatomen an den Positionen 7 und 8. Im Fall von BChl *c*, *d*, *e* und *f* handelt es sich um einen Chlorin Makrozyklus (mit zentralem Mg Atom) mit einem reduzierten Pyrrolring (IV) und einer Doppelbindung zwischen den bereits erwähnten Kohlenstoffatomen. Für die verschiedenen Arten von Bakteriochlorophyll sind in Tabelle 2.1 die unterschiedlichen Seitengruppen der jeweiligen Positionen aufgelistet.

	Position							
	3	7	8	7,8-Bindung	12	13 ²	20	17 ³
BChl <i>a</i>	-CO-CH ₃	M	E	einfach	M	-CO-O-CH ₃	H	P _i (GG)
BChl <i>b</i>	-CO-CH ₃	M	=CH-CH ₃	einfach	M	-CO-O-CH ₃	H	P
BChl <i>c</i> ¹	-CHOH-CH ₃ ⁴	M	E, Pr, I	doppelt	M, E	H	M	F ⁵
BChl <i>c</i> ²	-CHOH-CH ₃ ⁴	M	E	doppelt	M	H	M	S ⁶
BChl <i>d</i>	-CHOH-CH ₃ ⁴	M	E, Pr, I, N	doppelt	M, E	H	H	F ⁵
BChl <i>e</i>	-CHOH-CH ₃ ⁴	-CHO	E, Pr, I, N	doppelt	E	H	M	F ⁵
BChl <i>f</i> ³	-CHOH-CH ₃	-CHO	Alkyl	doppelt	alkyl	H	H	Alkyl
BChl <i>g</i>	-CH=CH ₂	M	=CH-CH ₃	einfach	M	-CO-O-CH ₃	H	F

Tabelle 2.1: Substituenten in Chlorophyll Molekülen. Aus [22, 52].

1) Grüne Schwefelbakterien.

2) Grüne Nichtschwefelbakterien.

3) Vorgeschlagener Name für ein BChl *e* Molekül, dem das C-20 Methyl fehlt. Kein natürliches Vorkommen (Risch 1988 LAC 343).

4) Sowohl die R und S Konfiguration der C-3¹ Position sind in beiden Typen grüner Bakterien vorhanden, wobei die R Konfiguration die häufigere ist.

5) Unter natürlichen Bedingungen liegen ebenfalls andere Alkohole vor.

6) Ausserdem in geringeren Mengen GG, P, Cetyl and Oleyl.

Abkürzungen: BChl - Bakteriochlorophyll, E - Ethyl, F - Farnesyl, GG - Geranylgeranyl, H - Wasserstoff, I - Isobutyl (2-Methylpropyl), M - Methyl, N - Neopentyl (2,2-Dimethylpropyl), P - Phytyl, Pr - Propyl, S - Stearyl.

Die Absorptionsspektren von monomer vorliegenden BChl *a*, *b*, *c*, *d* und *e* sind in Abbil-

dung 2.2(b) dargestellt. Es ist klar zu erkennen, dass jedes der Spektren drei Hauptabsorptionsbanden besitzt, welche nach dem gleichen Leitmotiv aufgebaut sind: eine herausragende Absorptionsbande befindet sich bei niedriger Energie, eine schwache Bande ist im Vergleich dazu zu leicht höheren Energien Energien und eine weitere starke Absorptionsbande befindet sich bei hoher Energie. Die starke Absorptionsbande bei niedriger Energie wird als Q_Y Bande bezeichnet, die dem Übergangsdipolmoment zugrunde liegt, das über die Pyrrole I und III gerichtet ist (vgl. Abbildung 2.2(a)). Die zweite, schwache Bande ist die Q_X Bande und resultiert aus dem Übergang, der senkrecht zum Q_Y Übergang orientiert ist. Die starke Absorption bei hohen Energien wird als Soret Bande bezeichnet und befindet sich zwischen Energien von ca. $22\,500\text{ cm}^{-1}$ bis $25\,000\text{ cm}^{-1}$ für BChl *c* und BChl *d* und höheren Energien für BChl *a* und BChl *b*. Die zu BChl *a* und BChl *b* gehörenden Absorptionsspektren weisen eine schwache Bande bei ungefähr $17\,000\text{ cm}^{-1}$ (Q_X) und eine heraus stechende Bande bei $12\,500\text{ cm}^{-1}$ (Q_Y) auf. Dieser Umstand verhält sich ähnlich bei den Spektren von BChl *c* und BChl *d*, allerdings ist hier die heraus stechende Q_Y Bande zu höheren Energien von ungefähr $15\,000\text{ cm}^{-1}$ verschoben, sodass die schwächere Q_X Bande als Schulter auf der höheren Energien zugewandten Seite erscheint.

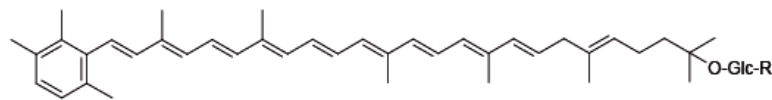
Die BChl Moleküle befinden sich im inneren des Chlorosoms, in dem sie sich selbständig zu Pigmentaggregaten zusammenfügen, deren Struktur ohne Proteingerüst zusammenhält. Grüne Schwefelbakterien enthalten, wie bereits erwähnt, BChl *c*, *d* oder *e* [34, 47, 53], aber auch BChl *f* wurde vor kurzem in Chlorosomen von mutierten Bakterien gefunden [50, 54]. BChl *f* enthaltende Chlorosome kommen unter natürlichen Umständen nicht vor, bzw. ist bis dato nichts gegenteiliges bekannt. Die Absorptionsmaxima der selbst anordnenden BChl Molekülaggregate sind im Gegensatz zum monomerisch vorliegenden BChl stark rot verschoben. Beispielsweise ist das Absorptionsmaximum von BChl Aggregaten der *Chlorobaculum tepidum* Chlorosome gegenüber dem monomerischen BChl *c* um ca 1500 cm^{-1} von $14\,993\text{ cm}^{-1}$ nach $13\,514\text{ cm}^{-1}$ verschoben [34]. Die Frage nach der Struktur dieser Aggregate ist umstritten und

verschiedene Modelle dafür wurden bisher für unterschiedliche Spezies aufgestellt [49, 50].

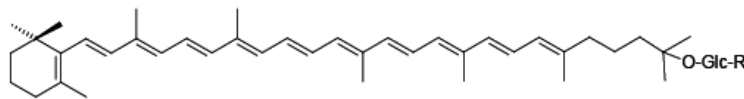
Karotinoide

Karotinoide bilden eine weitere wichtige Gruppe an Pigmenten in Chlorosomen. Sie machen ungefähr einen Anteil von 10 % der im Chlorosom enthaltenen Pigmente aus [50]. Karotinoide bestehen aus Ketten von Isopren-Einheiten. Entweder an einem oder an beiden Enden dieser Kette befindet sich eine aromatische Verbindung. Die wichtigsten Karotinoide in Chlorosomen grüner Schwefelbakterien sind Chlorobacten, γ – Caroten und Isorenieraten. Ihre chemische Struktur ist in Abbildung 2.3 dargestellt.

(a)



(b)



(c)

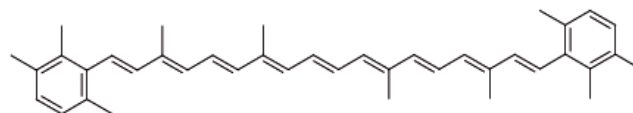


Abbildung 2.3: Chemische Strukturen von Carotinoiden, die in Chlorosomen grüner Schwefelbakterien enthalten sind. (a) Chlorobacten, (b) γ – Caroten, (c) Isorenieraten. Nach [10].

Karotinoide absorbieren Licht im sichtbaren Bereich von 350 nm bis 550 nm ($\approx 18\,180\text{ cm}^{-1}$ bis $28\,570\text{ cm}^{-1}$) und erweitern somit die Absorptionsbandbreite der Chlorosome [55, 56]. Außerdem haben sie die Photoprotektion zur Aufgabe, wobei verhindert wird, dass hochreaktiver Singulett Sauerstoff, der aus der Umgebung der Bakterien stammt, gebildet wird. Durch sogenanntes inter-system crossing (vgl. Kapitel 3) ist es möglich, dass ein angeregtes BChl Molekül in einen Triplett Zustand übergeht. Von diesem Zustand ist ein Energietransfer auf den Sauerstoff möglich, was zu angeregtem Singulett Sauerstoff führt ($^3\text{BChl}^* + ^3\text{O}_2 \rightarrow ^1\text{BChl} + ^1\text{O}_2^*$). Karotinoide sind in der Lage den Triplett Zustand eines Bakteriochlorophyllmoleküls abzuregen ($^3\text{BChl}^* + ^1\text{Car} \rightarrow ^1\text{BChl} + ^3\text{Car}^*$) [57, 58].

Außerdem wird vermutet, dass Karotinoide eine wichtige Rolle in der Anordnung der BChl Moleküle übernehmen. Sie befinden sich in den Zwischenräumen, die durch die Farnesylreste der BChl Moleküle entstehen. Durch Variation der Karotinoidmenge in Chlorosomen wird somit die Entfernung zwischen den selbst angeordneten BChl Aggregaten verändert [59–61].

Chinone

Chinone regulieren den Energietransfer von den BChl Molekülen zur Baseplate. Sie quenchen Anregungen unter Anwesenheit von Sauerstoff, um die Photosyntheserate zu verlangsamen [62]. Außerdem schützen sie den Organismus vor hochreaktivem O_2^- , das in den Fe-S Clustern des Reaktionszentrums gebildet wird [34, 63]. Grüne Schwefelbakterien enthalten Menaquinon-7 (MK-7) und Chlorobiumquinon. Die Menge an Chinonen in Chlorosomen beträgt 0,1 mol pro 1 mol Bakteriochlorophyll [45, 62]. Ihre chemische Struktur ist in Abbildung 2.4 dargestellt.

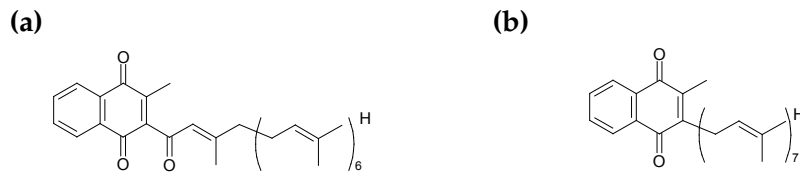


Abbildung 2.4: Chemische Struktur der in Chlorosomen grüner Schwefelbakterien enthaltenen Quinone. (a) Chlorobiumquinon (CK), (b) Menaquinon-7 (MK-7). Nach [10].

Proteine

Chlorosomale Proteine sind nicht im Inneren des Chlorosoms enthalten sondern befinden sich im umgebenden Monolipidumschlag. Zehn Proteine der grünen Schwefelbakterien *Chlorobaculum tepidum* und *Chlorobium vibrioforme* konnten identifiziert werden: CsmA, CsmB, CsmC, CsmD, CsmE, CsmF, CsmH, CsmI, CsmJ und CsmX [42, 53, 64–66]. Die individuelle Deaktivierung von neun der zehn Gene, die zur Codierung der Proteine nötig sind, hat keinen bzw. nur einen geringen Einfluss auf die Funktionalität der Chlorosome, ihre Absorptionseigenschaften, Pigmentgehalt oder die Wachstumsraten der Bakterien im Vergleich zu den nicht mutierten Organismen. CsmA ist das einzige Protein, das unabdingbar für die uneingeschränkte Funktionalität des Chlorosoms ist. CsmA bindet BChl *a* und ist somit notwendig für die Bildung der Baseplate [47]. Größe, Form und die spektralen Position der Absorptionsmaxima von Chlorosomen werden durch CsmB/CsmF und CsmC/CsmD Protein-Leitmotive beeinflusst [67]. CsmI, CsmJ und CsmX enthalten Eisensulfid-Cluster und sind verantwortlich für die Reduktion der Quencher, wie z.B. Chinone [68].

2.3.2 Baseplate

Wie zuvor erwähnt ist CsmA das einzige Protein, das essentiell für ein funktionsfähiges Chlorosom ist [47]. Es bindet BChl *a* und bildet mit ihm 2-dimensionale, parakristalline Strukturen aus [10, 69–72]. Diese parakristallinen Strukturen bestehen angenommener Weise aus Dimer-Einheiten. Ein Modell der Baseplate des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum*

tepidum wird in Referenz [73] beschrieben. Die Baseplate fungiert als Verbindung um den Energietransfer von den im Inneren des Chlorosoms befindlichen BChl Aggregaten zum FMO Pigment-Protein Komplex zu gewährleisten. Ihre Absorptionsmaximum liegt bei einer spektralen Position von ungefähr $12\,580\text{ cm}^{-1}$ ($\sim 795\text{ nm}$) und ist um 460 cm^{-1} (30 nm) gegenüber dem monomer vorliegenden BChl *a* zu geringeren Energien verschoben. Sie emittiert annähernd bei Wellenzahlen von $12\,120\text{ cm}^{-1}$ ($\sim 825\text{ nm}$) [74, 75].

2.3.3 FMO Komplex

Der FMO Komplex (benannt nach seinen Entdeckern Fenna, Matthews und Olson) wurde ausgiebig studiert und war der erste Pigment-Protein Komplex dessen Struktur analysiert wurde [76]. Es handelt sich um ein trimerisches Molekül, bei dem jede der drei Einheiten aus acht BChl *a* Molekülen besteht, die von zwei beta Faltblatt-Strukturen ummantelt sind. Der FMO Komplex agiert als ein Mediator für den Energietransfer zwischen der Baseplate und dem Reaktionszentrum. Während des Energietransfers entstehen langlebige Quantenkohärenzen, die möglicherweise eine entscheidende Rolle für die Effizienz und die Richtung des Energietransfers spielen [77–81].

2.3.4 Reaktionszentrum

Grüne Schwefelbakterien besitzen ein Reaktionszentrum vom Fe-S Typ, ähnlich wie jene des Photosystem I [8, 10, 45, 82–85]. Es umfasst 16 BChl *a* Moleküle, vier Chl *a* Moleküle und zwei Karotinoide [86]. Das Reaktionszentrum besitzt im Falle von *Chlorobaculum tepidum* vier Einheiten: (i) das P840 Reaktionszentrumsprotein PscA, (ii) das FeS Protein PscB, (iii) PscD und (iv) das Cytochrom *c* [87]. Die Ladungstrennung findet durch Oxidation des P-840 (ein BChl *a* Dimer) und Cytochrom *c* statt [88]. Das ATP wird dann durch Reduktion des Bakteriochlorophylls durch einen Elektronendonator, beispielsweise H_2S , synthetisiert. Danach wird entweder NADP^+ zu NADPH oder NAD^+ zu NADH reduziert [20, 89].

2.3.5 Chlorosome der Mutanten des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum*

Mutationen der Gensequenzen des Bakteriums *Chlorobaculum tepidum* gewähren Zugang über die Kontrolle bestimmter Seitengruppen der BChl Moleküle. Ausgehend vom Stamm ATCC 49652 leitet sich der Stamm WT2321 ab. Durch die PCR Megaprimer Methode ist es möglich verschiedene Gene separat zu deaktivieren oder zu verstärken. Eine ausführliche Beschreibung dieser Methode ist in den Referenzen [90, 91] zu finden. Die Mutationen beeinflussen die Seitengruppen R₈, R₁₂ oder R₂₀, die an den entsprechend nummerierten Kohlenstoffatomen (C₈, C₁₂, C₂₀) eines BChl Moleküls befindlich sind. Je nachdem auf welche der Seitengruppen (R₈, R₁₂ oder R₂₀) Einfluss genommen wird, werden die Mutanten als *bchQ*, *bchR* oder *bchU* Mutant bezeichnet. Es ist außerdem möglich mehrere Gene gleichzeitig zu deaktivieren, woraus der *bchQ bchR* (kurz *bchQR*) Mutant und der *bchQ bchR bchU* (kurz *bchQRU*) Mutant entstehen. Ein Überblick über die Mutanten ist in Tabelle 2.2 abgebildet.

Chlorosome verschiedener Mutanten wurden in Bezug auf ihre Absorptionseigenschaften und ihren Zirkulardichroismus untersucht [93]. Hieraus ist ersichtlich, dass die Nahordnung der BChl Anordnung stark durch die Festlegung einzelner Seitengruppen beeinflusst wird.

Mutant	Position der Seitengruppe(n)	entstehende Seitengruppe(n)	BChl Homolog
wild type	- - -	$R_8 = E, n\text{-Pr}, I$ $R_{12} = M, E$ $R_{20} = M$	BChl <i>c</i>
<i>bchQ</i>	C_8 - -	$R_8 = E$ $R_{12} = M, E$ $R_{20} = M$	BChl <i>c</i>
<i>bchR</i>	- C_{12} -	$R_8 = E, n\text{-Pr}, I$ $R_{12} = M$ $R_{20} = M$	BChl <i>c</i>
<i>bchU</i>	- - C_{20}	$R_8 = E, n\text{-Pr}, I$ $R_{12} = M, E$ $R_{20} = H$	BChl <i>d</i>
<i>bchQR</i>	C_8 C_{12} -	$R_8 = E$ $R_{12} = M$ $R_{20} = M$	BChl <i>c</i>
<i>bchQRU</i>	C_8 C_{12} C_{20}	$R_8 = E$ $R_{12} = M$ $R_{20} = H$	BChl <i>d</i>

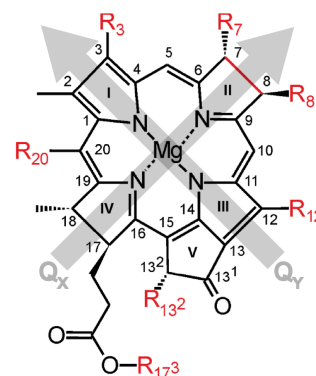


Tabelle 2.2: Seitengruppen der Mutanten des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum* [90, 91]. Zur Übersichtlichkeit der Positionen der Seitengruppen ist das gleiche Gerüst eines Bakteriochlorophyllmoleküls wie in Abbildung 2.2(a) rechts neben der Tabelle dargestellt.

Abkürzungen: E - Ethyl, H - Wasserstoff, I - Isobutyl (2-Methylpropyl), M - Methyl, Pr - Propyl. [92]

2.4 Historische Übersicht der Forschung an Chlorosomen

Das erste Mal wurden vollständige Chlorobium Vesikel (Chlorosome) der grünen Bakterien *Chlorobium limicola* und *Chlorobium thiosulfatophilum* von Germaine Cohen-Bazire, Norbert Pfennig und Riyu Kunisawa im Jahr 1964 extrahiert [94]. Durch Elektronenmikroskopie folgerten Cruden und Steiner im 1970 intravesikuläre Strukturen mit Durchmessern von 9 nm bis 10 nm und einer zentralen Aussparung mit einem Durchmesser von 3 nm [95]. Das erste Modell für Chlorosome wurde 1976 von Olsen vorgeschlagen [96]. Dieses besagt, dass das im Chlorosom enthaltene Bakteriochlorophyll von einem Lipidumschlag umgeben und

an der cytoplasmatischen Membran verankert ist. Es wurde angenommen, dass sich die zugehörigen Schichten der Membran und das Zytoplasma des besagten Lipidumschlags unterscheiden. Gemäß des Modells sollte sich der CsmA-BChl *a* Protein-Komplex zwischen der cytoplasmatischen Membran und der Membran zugewandten Schicht befinden.

Chlorosome des grünen Nichtschwefelbakteriums *Chloroflexus Aurantiacus* wurden mittels Gefrierbruch-Elektronenmikroskopie untersucht [97]. Es wurde geschlossen, dass Chlorosome dieser Spezies Aggregate zylindrischer Form mit einem Durchmesser von ungefähr 5,2 nm besitzen, die sich über die gesamte Länge der Chlorosome erstrecken. 1986 untersuchte man *Chloroflexus aurantiacus* Chlorosome mit Hilfe der optischen Spektroskopie [98]. Es wurden dabei zwei optisch Übergänge der BChl *c* Aggregate gefunden, der erste bei einer Wellenlänge von 742 nm unter einem Winkel von 37° bezogen auf die Lange Achse des Zylinders, der zweite bei 725 nm unter einem Winkel von 16°. Des weiteren wurde ein Winkel von 55° zwischen Übergangsdipolmomenten des BChl *c* und BChl *a* geschlossen.

Im gleichen Jahr kamen van Dorssen et. al. durch Absorptions-, Lineardichroismus-, Fluoreszenz-Anregungs- und Fluoreszenz-Emissionsspektroskopie an Chlorosomen von *Chlorobium limicola* zu der Erkenntnis, dass die Baseplate ein integraler Bestandteil des gesamten Chlorosoms sein muss und eine wichtige Funktion im Energietransfer ausgehend von den BChl *c* Aggregaten zur photosynthetischen Membran spielt [99].

Nachdem angenommen wurde, dass das BChl innerhalb der Chlorosome selbst organisierend ist [100, 101] und Aggregate ausbildet, die kein weiteres Proteingerüst benötigen [102] wurden semiempirische Kräftefeld Berechnungen und quantenchemische Methoden an BChlid *d* Aggregate angewandt (Chlorophyllide (Chlide) bzw. Bakteriochlorophyllide (BChlide) sind Chlorophylle bzw. Bakteriochlorophylle ohne Phytyl-, Farnesyl- oder Stearylalkoholseitenketten, vgl. Abbildung 2.5) [103]. Für die Seitengruppen R₈, R₁₂ des BChlid *d* an den Positionen 8 und 12 (C₈, C₁₂) wurden Methylgruppen (CH₃) angenommen. Für die C₂₀ Position, an der sich im Fall von BChlid *d* ein Wasserstoffatom befindet, wurde keine Seiten-

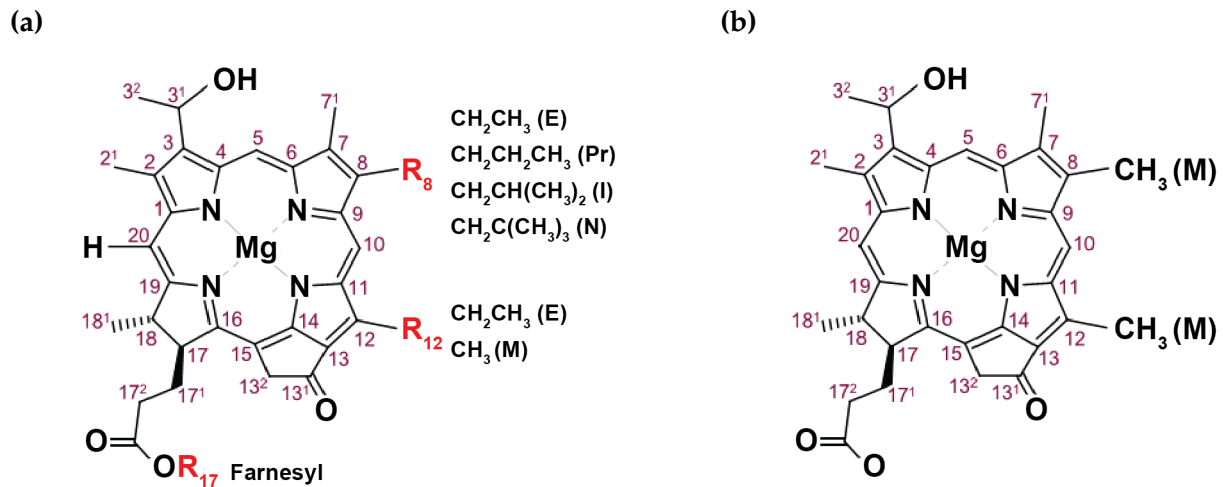


Abbildung 2.5: (a) Grundgerüst eines BChl *d* Moleküls. Die Seitengruppen R_8 und R_{12} der Kohlenstoffatome an den Positionen 8 und 12 (C_8 , C_{12}) sind variabel und sind jeweils rechts neben den entsprechenden Positionen aufgelistet. BChl *d* besitzt ausserdem eine Farnesylkette (R_{17}), BChlid *d* weist an entsprechender Position keine Seitenkette auf. (b) BChlid *d* mit Methylgruppen an den Positionen C_8 und C_{12} , wie es für die Berechnungen in Referenz [103] verwendet wurde. Abkürzungen: E - Ethyl, I - Isobutyl (2-Methylpropyl), M - Methyl, N - Neopentyl, Pr - Propyl. Nach [22, 52, 103–105]

gruppe gewählt. Abbildung 2.5(b) zeigt ein BChlid Molekül, wie es für die Berechnungen verwendet wurde.

Durch diese Analyse wurden zwei wichtige Wechselwirkungen der BChlide gefunden:

- (i) Die intrastack Wechselwirkung: aneinander grenzende BChlid Moleküle binden über die Hydroxylgruppe (OH) der 3^1 Position (C_3^1) mit dem zentralen Mg Atom.
- (ii) Die interstack Wechselwirkung: aneinander grenzende BChlid Moleküle verschiedener Stacks binden über die Hydroxylgruppe (OH) der 3^1 Position (C_3^1) und der Ketogruppe (CO) der 13^1 Position (C_{13}^1). Die intra- und interstack Wechselwirkungen sind in Abbildung 2.6(a) verdeutlicht. Über diese Wechselwirkungen war es möglich ein lamellenartiges Aggregat aus 40 BChlid Molekülen zu erstellen, das einen Krümmungsradius von 2,7 nm aufweist (Abbildung 2.6(c)).

Das beschriebene Modell wurde erweitert und eine geschlossene, zylindrische Struktur mit einem Durchmesser von 4,6 nm wurde erzeugt. [106]. Hierbei lag ein Abstand von 0,65 nm

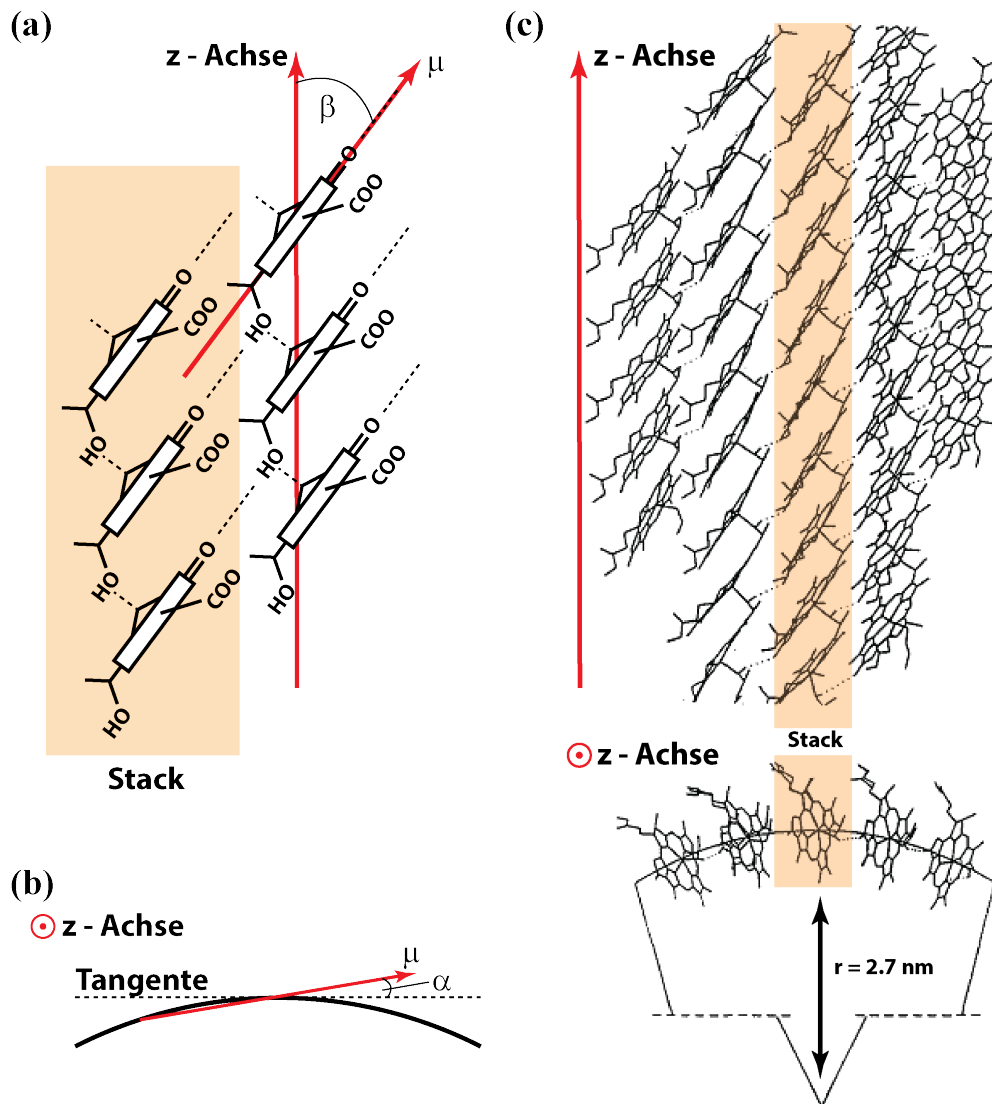


Abbildung 2.6: (a) Veranschaulichung der intra- und interstack Wechselwirkungen. Die z-Achse ist parallel zur intrastack Richtung. Bindungen sind durch gestrichelte Linien angedeutet. (b) Darstellung des Winkels α zwischen einem Übergangsdipolmoment eines BChlid Moleküls und der Tangente der Aggregatberandung. (c) Seitenansicht (oben) und Ansicht von oben (unten) des energieminierten Aggregates aus 40 BChlid Molekülen, angeordnet in Stacks zu 5, 10, 10, 10 und 5 Einheiten. In der Ansicht von oben ist eine Krümmung erkennbar. Nach [103, 106]

zwischen angrenzenden Stacks. Die Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten der BChlid Moleküle und der Stackrichtung (z-Achse) bzw. der Tangente der Zylinderberandung betrugen $\beta = 36,7^\circ$ bzw. $\alpha = 9,6^\circ$ (vgl. Abbildung 2.6(a,b)). Zur Simulation der Spektren

wurde ein Frenkel-Exziton Hamiltonian herangezogen (vgl. Kapitel 3.3), außerdem wurden Pigmente als Punktdipole angenommen. Die derart simulierten Spektren stimmen gut mit experimentell aufgenommenen Spektren überein. Durch Hochfeld 2-D und 3-D MAS NMR an Chlorosomen von *Chlorobaculum tepidum* wurde auf eine doppelwandige, zylindrische Form der enthaltenen BChl *c* Aggregate geschlossen [107]. Die Farnesylreste (R_{17}) des inneren Zylinders zeigen dabei nach innen, die des äußeren Zylinders nach außen (vgl. Abbildung 2.7).

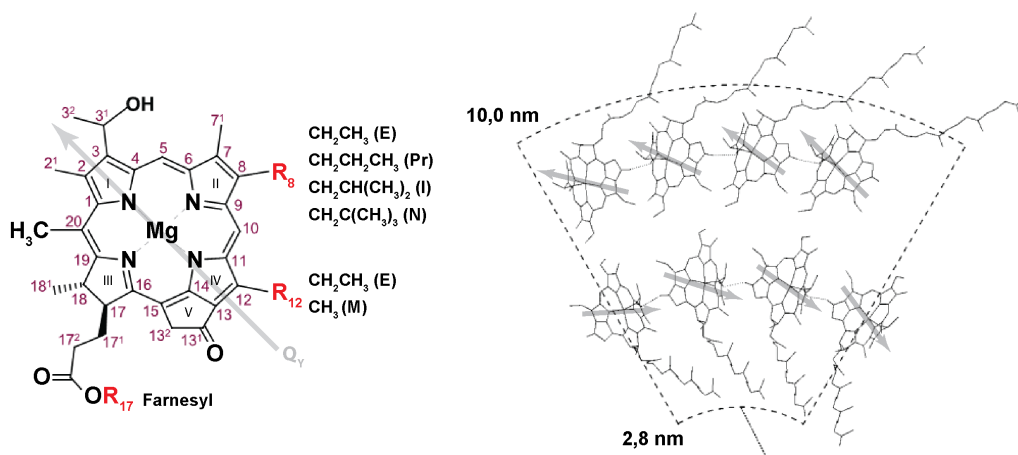


Abbildung 2.7: Bacteriochlorophyll *c* Molekül mit angedeutetem Q_Y Übergang (links). Ausschnitt aus der doppelwandigen Anordnung der BChl *c* Moleküle nach dem vorgeschlagenen Modell aus Referenz [107] (rechts). Nach [105, 107]

Für die BChl Aggregate von Chlorosomen der Bakterien *Chloroflexus aurantiacus* und *Chlorobaculum tepidum* wurden verschiedene Strukturen empfohlen [108]. Es wurden numerische Simulationen für einzelwandige und doppelwandige, zylindrische Aggregate durchgeführt, wobei die erste Struktur dem Bakterium *Chloroflexus aurantiacus*, die zweite *Chlorobaculum tepidum* zugeordnet wurde. Die wichtigsten Parameter beider Aggregate sind in Tabelle 2.3 aufgelistet.

In den von Prokhorenko et al. durchgeführten Untersuchungen [108] wurde energetische Unordnung mit einbezogen, sodass exzitonische Übergangsdipolmomente (vgl. Kapitel 3),

2 Bakterielle Photosynthese

Parameter	Wert
Parameter der Struktur der <i>Chloroflexus aurantiacus</i> Zylinderaggregate	
Radius	2,275 nm
Winkel zwische den Übergangsdipolmomenten und der langen Achse des Zylinders β ¹	36,5°
Winkel zwische den Übergangsdipolmomenten und der Tangente xy-Ebene des Zylinders α ²	10°
Parameter der Struktur des inneren Zylinders der <i>Chlorobaculum tepidum</i> Doppelwandaggregate	
Radius	2,682 nm
Winkel zwische den Übergangsdipolmomenten und der langen Achse des Zylinders β ¹	35,5°
Winkel zwische den Übergangsdipolmomenten und der Tangente xy-Ebene des Zylinders α ²	4°
Parameter der Struktur des äußeren Zylinders der <i>Chlorobaculum tepidum</i> Doppelwandaggregate	
Radius	4,072 nm
Winkel zwische den Übergangsdipolmomenten und der langen Achse des Zylinders β ¹	36°
Winkel zwische den Übergangsdipolmomenten und der Tangente xy-Ebene des Zylinders α ²	−5°

Tabelle 2.3: Parameter der Simulationen an Pigment Aggregaten von Chlorosomen der grünen Bakterien *Chloroflexus aurantiacus* und *Chlorobaculum tepidum*. ¹ β Winkel wie in Abbildung 2.6(a) definiert; ² α Winkel wie in Abbildung 2.6(b) definiert. Die in [108] angegebenen Winkel wurden umgerechnet um eine bessere Vergleichbarkeit mit denen, wie sie in dieser Arbeit verwendet werden zu gewährleisten. Aus [108].

die nicht parallel oder senkrecht zur langen Achse des Zylinders polarisiert sind einen Anteil an der Oszillatorenstärke der Exzitonzustände des Aggregates bekommen. Des weiteren wurde der Einfluss der Aggregatlänge (size effect), sowie der Einfluss angrenzender Aggregate auf die elektronische Struktur eines einzelnen Aggregates überprüft.

Cryoelektron Mikroskopie Aufnahmen an Chlorosomen von *Chlorobaculum tepidum* zeigten ein Streifenmuster entlang der langen Achse der Chlorosome [18]. Der Abstand zwischen den Streifen wurde zu 2,0 nm bestimmt und wurde durch Röntgenbeugung an Komplexen der gleichen Spezies bestätigt. Es wurde geschlussfolgert, dass sich die im Chlorosom enthaltenen BChl Moleküle nebeneinander in semikristallinen Aggregaten anordnen und somit ein eine dicht gepackte Anordnung von lamellenartigen Aggregaten erzeugen. Aus den Ergebnissen

der Röntgenbeugungsexperimente wurden hexagonal angeordnete zylindrische Strukturen ausgeschlossen. Ferner sind die lamellenförmigen Aggregate aus BChl Dimeren aufgebaut, die durch die an der C_3^1 Position befindlichen Hydroxylgruppe und der Ketogruppe an der C_{13} Position eine Bindung eingehen. Die veresterten Alkoholseitenketten zeigen dabei aus der Aggregatebene und ermöglichen so Verflechtungen zwischen den Aggregaten. Durch eine Studie an braun gefärbten Bakterien (*Chl. phaeovibrioides*, *Chl. phaeobacteroides*), die hauptsächlich BChl *e* enthalten, wurde festgestellt, dass Karotinoide Einfluss auf den Abstand zwischen den lamellenförmigen Aggregaten nehmen [109]. Karotinoide wurden hierbei durch Behandlungen mit Hexan entfernt, was eine Verringerung der Aggregatabstände zur Folge hatte. Oberflächenanalysen einzelner Chlorosome legten nahe, dass innerhalb der Komplexe Domänen entstehen, in denen Lamellenaggregate angeordnet sind. Bei einer glatten Oberfläche sollen demzufolge die Aggregate parallel angeordnet sein und sich eine einzelne Domäne über den gesamten Komplex erstrecken, wohingegen in Chlorosomen mit einer rauen Oberfläche mehrere Domänen unterschiedlich Orientierungen entstehen.

2006 erforschten Shibata et al. einzelne Chlorosome der Spezies *Chloroflexus aurantiacus* und *Chlorobaculum tepidum* mittels Fluoreszenz-Emissions Spektroskopie bei tiefen Temperaturen von 13 K. Dazu wurden die Proben entweder auf einem Glassubstrat adsorbiert oder in einem Medium eingefroren. Die Spektren verschiedener Chlorosome der gleichen Spezies und gleicher Präparation wiesen Unterschiede in ihrer Form auf. Außerdem waren Spektren der adsorbierten Chlorosome gegenüber den eingefrorenen zu leicht höheren Energien verschoben. Im Gegensatz zu den Spektren der Chlorosome der Spezies *Chloroflexus aurantiacus*, die nur ein Emissionsmaximum besaßen, wiesen die der Spezies *Chlorobaculum tepidum* zwei auf. Demnach wurde konstatiert, dass eine Vielfalt an BChl Aggregaten in Chlorosomen verschiedener Spezies auftreten.

Oostergetel et al. untersuchten in Eisschichten eingefrorene Chlorosome des Wildtyp und *bchQRU* Mutant von *Chlorobaculum tepidum* mittels cryo-Elektronenmikroskopie [110]. In

diesen Eisschichten war der Großteil der Chlorosome parallel zur Ebene der Eisschicht orientiert, sodass eine Seitenansicht (senkrecht zur langen Achse der Chlorosome) ermöglicht wurde. Ein geringer Teil der Chlorosome war senkrecht dazu orientiert und ermöglichte eine Ansicht auf die Grundfläche der Komplexe. Die Seitenansichten zeigten ein streifenförmiges Muster, ausgedehnt über die gesamte Länge der Chlorosome und mit einem Abstand von ungefähr 2,1 nm zwischen den Streifen. Die Grundflächen wiesen kreisförmige konzentrische Ringe des gleichen, zuvor genannten Abstandes mit Radien zwischen 10 nm und 15 nm auf. Die Chlorosome des Mutanten wiesen zwei weitere Abstände von 0,8 nm und 1,0 nm, sowie regelmäßiger Muster und eine größere Anzahl konzentrischer Kreise der Grundfläche auf. Aus diesen Ergebnissen wurde auf mehrwandige zylindrische Strukturen der BChl Aggregate geschlossen, wobei denen der Wildtyp Chlorosome im Gegensatz zu den Chlorosomen des Mutanten eine höhere strukturelle Heterogenität zu Grunde liegt.

Von Linnanto et al. wurden detaillierte, rechengestützte Studien an hypothetischen Pigmentaggregaten durchgeführt [111]. Die Stabilität der unterschiedlichen Aggregate wurde zuerst mittels Berechnungen der molekularen Funktionsweise überprüft. Hiernach hat die Variation der Orientierung verschiedener Pigmente relativ zueinander einen geringen Einfluss auf die makroskopische Struktur der Aggregate, die durch ein Netzwerk an Wasserstoffbrückenbindungen stabilisiert wird. Des weiteren wurden Absorptions-, Lineardichroismus- und Zirkulardichroismusspektren über einen Frenkel-Exziton Hamiltonian (vgl. Kapitel 3.3) berechnet. Es stellte sich eine Abhängigkeit der Spektren von der Größe der Aggregate heraus. Dabei verschob sich das Absorptionsmaximum der größer werdenden Aggregate zu höheren Wellenlängen, jedoch stellte sich bei einer Aggregatlänge von ca. 60 nm ein Sättigungsverhalten bezüglich jener Verschiebung ein. Der Verlauf der CD Spektren änderte sich beispielsweise bei einer Aggregatlänge von 30 nm von $(+ \mid -)$ nach $(- \mid + \mid -)$ (vgl. Kapitel 3.4). Ähnliche Verhaltensweisen wurden ebenfalls für Änderungen der Aggregatdurchmesser gefunden. Ein Vergleich zwischen zylindrischen und lamellenförmigen Aggregaten zeigte, dass letztere

unter gleichen Pigmentbindungen und gleicher Pigmentdichte deutlich weniger Rotationsstärke besitzen. Außerdem wurde eine Blauverschiebung der Spektren bei Vergrößerung des Winkels β zwischen der langen Achse der Aggregate und den Übergangsdipolmomenten nachgewiesen (vgl. Abbildung 2.6(a)). Diese Entdeckungen stimmen perfekt mit generalisierten Studien an zylindrischen J-Aggregaten überein [112–119].

Ergebnisse verschiedener Bioimaging Verfahren, sowie NMR und cryo-EM Verfahren wurden mit Simulationen diverser Pigment-Aggregatmodelle verglichen [105]. Folgende Modelle wurden analysiert und sind in Abbildung 2.8 dargestellt: (A) Paralleler Stack, (B) Piggy-back Dimer, (C) Antiparalleler Monomer Stack und (D) *syn-anti* Monomer Stack.

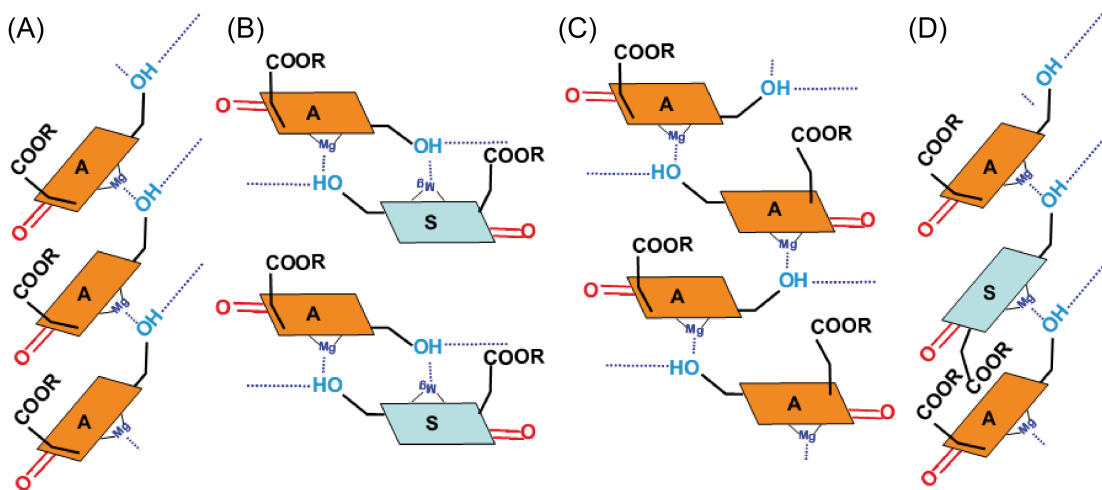


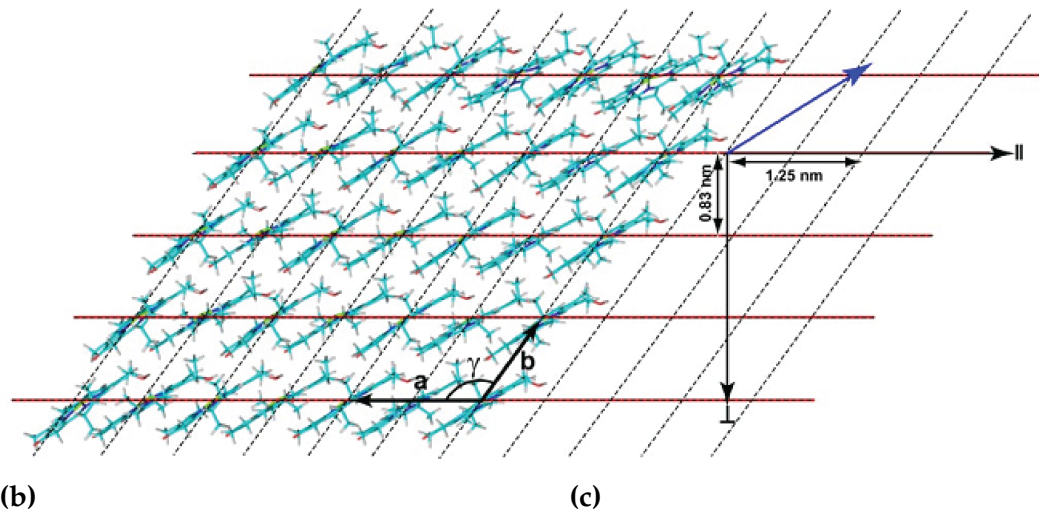
Abbildung 2.8: Schematische Darstellung der für die Simulationen verwendeten Strukturmodelle. (A) Paralleler Stack. (B) Piggy-back Dimer. (C) Antiparalleler Monomer Stack. (D) *syn-anti* Monomer Stack. Ein einzelner Stack ist definiert durch die Bindung zwischen der Hydroxylgruppe eines BChl Moleküls und des zentralen Mg Atoms eines angrenzenden BChl Moleküls. Aus [105]

Im Fall des parallelen Stacks (Abbildung 2.8(A)) sind die BChl Moleküle derart angeordnet, dass sowohl ihre Ketogruppen an der C_{13}^1 Position als auch die Farnesylreste und ihre Übergangsdipolmomente in die Gleiche Richtung zeigen. Das Piggy-back Dimer (Abbildung 2.8(B)) ist so aufgebaut, dass eine Bindung zwischen den Hydroxylgruppen zweier

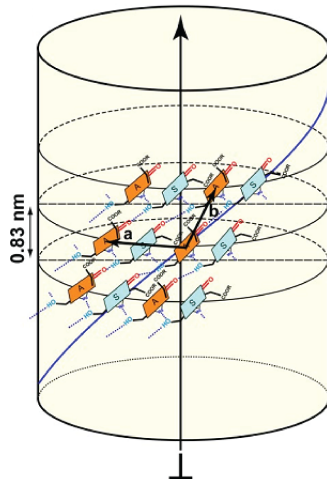
BChl Moleküle und dem Mg Atom des jeweils anderen BChl Moleküls entsteht. Sowohl die Ketogruppen als auch die Farnesylreste der beteiligten BChl Moleküle zeigen jeweils in entgegengesetzte Richtungen. Die Übergangsdipolmomente der Pigmente sind demzufolge parallel orientiert. Die BChl Moleküle des antiparallelen Monomer Stacks (Abbildung 2.8(C)) zeigen abwechselnd in entgegengesetzte Richtungen, wobei die Farnesylreste aller BChl Moleküle auf der gleichen Seite des Stacks, also auf der dem Betrachter der Abbildung zugewandten Seite, liegen. Entsprechend liegen die Ketogruppen auf der vom Betrachter abgewandten Seite. Die Übergangsdipolmomente dieser Anordnung zeigen somit (parallel zum jeweiligen BChl Molekül) aus der Betrachtungsebene hinaus. Das vierte Modell ist der *syn-anti* Monomer Stack, bei dem die Farnesylreste bzw. Ketogruppen der BChl Moleküle abwechselnd auf gegenüberliegenden Seiten liegen. In Abbildung 2.8(D) zeigen die Farnesylreste der *anti* Konfiguration aus der Betrachtungsebene hinaus und zum Betrachter hin, wohingegen die der *syn* Konfiguration aus der Betrachtungsebene um vom Betrachter weg gerichtet sind. Die Ketogruppen der jeweiligen Konfigurationen verhalten sich genau gegenläufig, so liegen die der *anti* Konfiguration auf der Rückseite der Betrachtungsebene, die der *syn* Konfiguration auf der dem Betrachter zugewandten Seite. Dementsprechend sind die Übergangsdipolmomente der BChl Moleküle um einen bestimmten Winkel aus der Betrachtungsebene heraus rotiert und zeigen abwechselnd vom Betrachter weg (*syn* Konfiguration) bzw. zum Betrachter hin (*anti* Konfiguration). Das Resultat der durchgeführten Studie [105] besagt, dass zylindrische Aggregate, aufgebaut aus *syn-anti* Monomer Stacks, die experimentellen Daten am besten reproduzieren. Aus diesem Grund wurde eine Einheitszelle zur Anordnung der Pigmente gleicher Konfigurationen vorgeschlagen: $\vec{a} = 1,25 \text{ nm}$, $\vec{b} = 0,98 \text{ nm}$ und $\gamma(\angle(\vec{a}, \vec{b})) = 122^\circ$. Ein zwei-dimensionales Array, aufgebaut aus BChl Molekülen alternierender *syn-anti* Konfigurationen, ist in Abbildung 2.9(a) dargestellt.

Um zylindrische Aggregate zu formen wird das zwei-dimensionale Array senkrecht bzw. parallel zu \vec{a} aufgerollt. Der erste Fall repräsentiert hierbei zylindrische Pigmentaggregate

(a)



(b)



(c)

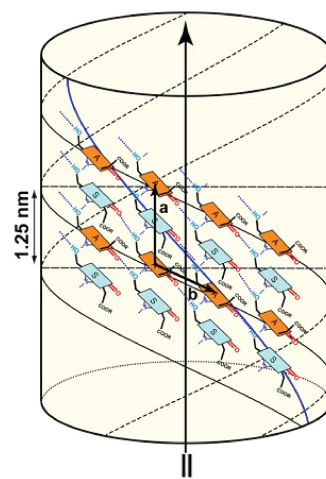


Abbildung 2.9: Strukturmodell der Chlorosom-Pigmentaggregate des *bchQRU* Mutanten und wild type. (a) Ausschnitt eines *syn-anti* Arrays aus 7×5 Pigmenten. Einzelne Stacks sind durch die horizontalen roten Linien angedeutet. Der vertikale Abstand zwischen den Stacks beträgt 0,83 nm, der vertikale Abstand zwischen gleich orientierten Pigmenten (*syn* oder *anti*) beträgt 1,25 nm. Die Dimensionen der Einheitszelle sind $a = 1,25$ nm, $b = 0,98$ nm und $\gamma = 122^\circ$. (b und c) Helices bei denen die lange Achse des Zylinder senkrecht bzw. parallel zu den Stacks verläuft. Helices, die entlang der Wasserstoffbrücken zwischen der Hydroxyl- und der Ketogruppe verlaufen, sind in blau angedeutet und weisen eine rechtsdrehende (b) bzw. linksdrehende (c) Händigkeit auf. Aus [105].

des *bchQRU* Mutanten und ist in Abbildung 2.9(b) dargestellt. Ein solches Aggregat kann wie eine lineare Kette aus Ringen betrachtet werden, wobei aneinander grenzende Ringe unter

einem bestimmten Scherwinkel gestapelt werden. Der zweite Fall spiegelt Aggregate des Wildtyp wieder und ist in Abbildung 2.9(c) dargestellt.

2009 nahmen Shibata et al. polarisationsaufgelöste Fluoreszenzemissionsspektren einzelner Chlorosome bei 13 K der grünen Bakterien *Chlorobaculum tepidum* und *Chloroflexus aurantiacus* auf [120]. Die Spektren wurden sowohl bezüglich ihres Phasenunterschiedes (PS, engl.: phase shift) zwischen der BChl *c* und BChl *a* Emission als auch ihrer Modulationstiefe (MR, engl.: modulation ratio) untersucht. Der Phasenunterschied ist dabei definiert als $PS = |\theta_{c0} - \theta_{a0}|$. Die polarisationsabhängige Emission wurde dazu jeweils an den spektralen Positionen der maximalen Intensität der BChl *c* und BChl *a* Komplexe, mit einer \cos^2 Funktion gefittet. θ_{c0} und θ_{a0} repräsentieren die entsprechenden Nullphasenwinkel der Intensitätsmodulationen. Die Phasendifferenz spiegelt somit die Orientierung der Übergangsdipolmomente der BChl (*c*) gegenüber den BChl *a* Aggregaten wieder. Für *Chloroflexus aurantiacus* Chlorosome liegt die Phasendifferenz in einem Bereich um 90° , bei denen von *Chlorobaculum tepidum* ist sie etwas geringer und liegt in einem Bereich um 80° . Die Modulationstiefe $MR(\nu) = \frac{I_{\max}(\nu) - I_{\min}(\nu)}{I_{\max}(\nu) + I_{\min}(\nu)}$ ist ein Maß für Heterogenität bzw. den Einfluss verschieden orientierter Übergangsdipolmomente an einer bestimmten spektralen Position ν . $MR = 1$ spiegelt dabei eine ausschließlich parallele Orientierung der Übergangsdipolmomente wieder, wohingegen $MR = 0$ eine homogene Verteilung bezeichnet. Aus ihr wurde geschlussfolgert, dass Übergangsdipolmomente innerhalb eines Chlorosoms über einen bestimmten Bereich verteilt sind. Das bedeutet, dass ihre Richtungen vom idealen Fall, in dem sie entweder parallel oder senkrecht zur Hauptachse des Zylinders polarisiert sind (vgl. Kapitel 3.3.1) abweichen. Des weiteren wurde über den Vergleich von nicht deformierten mit deformierten Zylindern eine triaxiale Verteilung der Orientierungen der Übergangsdipolmomente der Chlorosom-Pigmentaggregate konstatiert, wobei Exzitonen, deren Übergangsdipolmoment parallel zur Hauptachse des Zylinders polarisiert ist, den größte Teil der Oszillatorenstärke besitzen.

In Referenz [121] wurden die Fluoreszenz-Emission und die Transmission an einzelnen

Chlorobaculum tepidum Chlorosomen des *bchQRU* Mutanten und des Wildtyp als Funktion ihrer Polarisation der Anregungsstrahlung bei unveränderter Photonenenergie gemessen. Zusätzlich zur Modulationstiefe MR wurde der Winkel $\gamma = \tan^{-1}(\sqrt{I_{min}/I_{max}})$ bestimmt. Werte von 0° und 45° bedeuten eine parallele bzw. isotrope Orientierung der Übergangsdipolmomente. Für die Q_Y Übergänge der Wildtyp Chlorosome wurde eine hohe Korrelation zwischen Absorption und Emission gefunden. In Verbindung mit drei-dimensionalen Linear-dichroismus Messungen an Ensemble Proben konnte über γ der Winkel zwischen dem mittleren Übergangsdipolmoment und der Hauptachse des Chlorosoms bestimmt werden. Dieser Winkel beträgt 25° für Wildtyp und 42° für *bchQRU* Mutant Chlorosome. Außerdem wurde in Chlorosomen des *bchQRU* Mutanten eine höhere Ordnung bezogen auf die innere Organisation der BChl Moleküle gefunden als in Chlorosomen des Wildtyp.

Tian et al. führten 2011 zwei-dimensionales Polarisationsimaging an einzelnen Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp durch [122]. Die Spektren wurden bei Raumtemperatur und drei verschiedenen Wellenlängen, nämlich 458 nm, 633 nm und 750 nm durchgeführt. Es wird berichtet, dass Chlorosome dieser Studie äußerst vorsichtig aus dem Bakterium extrahiert wurden und das Bakterium selbst unter besser kontrollierten Wachstumsbedingungen als zuvor gezüchtet wurde. Im Rahmen dieser Studie wurde die Modulationstiefe sowohl für die Absorption MR_a als auch für die Fluoreszenz MR_f bestimmt. Letztere ist dabei unabhängig von der Anregungswellenlänge und ist eng um einen Mittelwert von 0,77 verteilt. Das verhält sich anders für die Modulationstiefe der Absorption. Diese ist abhängig von der Anregungswellenlänge und ihre Mittelwerte sind $MR_a(458 \text{ nm}) = 0.69$, $MR_a(633 \text{ nm}) = 0.38$ und $MR_a(750 \text{ nm}) = 0.78$. Dieses Ergebnis deutet eine bestimmte Orientierung der BChl Moleküle, aus denen die Pigmentaggregate geformt sind an. Aufgrund der hydrophilen Eigenschaften können sich Chlorosome frei auf dem verwendeten Probenträger orientieren, wobei ihre Hauptachse stets parallel zur Oberfläche des Probenträgers ausgerichtet ist. Diese Schlussfolgerung führt zu der Annahme, dass eine Aggregation der BChl Moleküle

zu Lamellen unwahrscheinlich ist, denn andernfalls gäbe es eine orientierungsabhängige Vorzugsrichtung der Übergangsdipolmomente und damit breitere Verteilungen der Modulationstiefe.

Einzelne Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum* *bchQRU* Mutanten wurden mittels CD Spektroskopie bei Raumtemperatur untersucht [123]. Einzelne Komplexe wurden dazu auf einem Probenträger adsorbiert und abwechselnd mit links und rechts zirkular polarisiertem Licht mit einer Wellenlänge von 733 nm angeregt. Als achirale Referenz wurden HITIC Beads verwendet. Aus den Fluoreszenzintensitäten I_L und I_R der unterschiedlich polarisierten Anregungen wurde ein Asymmetriefaktor $g = 2 \frac{I_L - I_R}{I_L + I_R}$ bestimmt. Dieser unterscheidet sich für ein repräsentatives Ensemble aus 480 Messungen an individuellen Chlorosomen, die auf dem Probenträger ausgerichtet sind ($g = -0.025 \pm 0.006$) von dem einer tatsächlichen Ensembleprobe in Lösung ($g = -0.010$). Aus diesen Ergebnissen geht eine wohlgeordnete innere Struktur der *bchQRU* Mutanten Chlorosome hervor, wobei beispielsweise Variationen der Aggregatgrößen innerhalb eines Komplexes nicht ausgeschlossen werden können.

An Chlorosomen der Spezies *Prosthecochloris aestuarii* und *Chlorobaculum tepidum* wurden zeitaufgelöste Absorptionsmessungen durchgeführt [124]. Die Messungen fanden bei Raumtemperatur mit einer Auflösung im Femtosekundenbereich statt. Man fand heraus, dass ein interchlorosomaler Energietransfer auf folgenden Zeitskalen statt findet: (i) von 1 fs bis 3 fs, (ii) von 25 fs bis 35 fs und (iii) von 117 fs bis 270 fs. Der Energietransfer von den im Chlorosom enthaltenen BChl Molekül-Aggregaten bis hin zur Baseplate findet zwischen 6 ps und 12 ps statt. Diese Zeitskalen wurden ebenfalls von einem Modell, ein Doppelwandzylinder mit einer Länge von 70 nm und Zylinderradien von 5 nm und 10 nm, der sich in einem Abstand von 2 nm zur Baseplate befindet, vorhergesagt.

Sowohl die Absorptions-, LD und CD Spektren als auch der Energietransfer und die Entwicklung der Exzitonendichte wurden für verschiedene Pigmentaggregate berechnet [125]. Die simulierten Daten stimmen dabei hinreichend genau mit experimentellen Resul-

taten überein. Die Exzitonendichte des niedrigsten Exzitonzustands eines zylindrischen Aggregates zeigte ein helikales Muster um das Aggregat, wohingegen der Zustand mit der höchsten Oszillatorenstärke kreisförmig um den Umfang des Aggregates delokalisiert war. Außerdem wurden die Einflüsse der Aggregatgröße (size effect), Veränderungen der Monomer-Übergangsenergie und der Erhöhung der Dipolstärke der monomeren Übergangsdipolmomente überprüft. Es stellte sich heraus, dass Effekte durch Störeinflüsse auf ein Aggregat mit zunehmender Aggregatgröße geringer werden. Des weiteren verschieben sie die absolute spektrale Position der LD Banden, wobei die Form des LD Spektrums weitestgehend erhalten bleibt. Es wurde außerdem gezeigt, dass der Energietransfer zwischen den Aggregaten und von den Aggregaten hin zur Baseplate senkrecht zur Hauptachse der Aggregate und auf Zeitskalen zwischen 200 fs und 500 fs bzw. 5 ps und 20 ps statt findet.

3 Theoretischer Hintergrund

3.1 Optische Übergänge in Pigmentmolekülen

Pigmentmoleküle sind in der Lage ihren energetischen Zustand durch die Absorption oder Emission elektromagnetischer Strahlung zu ändern. Die Energieniveaus der Moleküle lassen sich über die Schrödingergleichung $\hat{H}\Psi = E\Psi$ berechnen [126]. \hat{H} ist dabei der Hamiltonoperator, Ψ die molekulare Wellenfunktion und E repräsentiert die Energien der Zustände. Die molekulare Wellenfunktion Ψ ist dabei abhängig von allen Freiheitsgraden der Elektronen und Atomkerne. Aus dem Grund, dass es unmöglich ist die Schrödingergleichung komplexer, molekularer Systeme analytisch exakt zu lösen, müssen Näherungen herangezogen werden. Unter Annahme der Born-Oppenheimer-Näherung wird die quantenchemische Berechnung der Zustände eines Moleküls vereinfacht [127]. In dieser Näherung, die einen Separationsansatz darstellt, werden die Elektronen- und Kernbewegungen, aufgrund der großen Differenz ihrer Massen getrennt. Das bedeutet, dass die molekulare Wellenfunktion als Produkt der Elektronen- und Kernwellenfunktion angesehen werden kann: $\Psi = \Psi_{\text{el}} \cdot \Psi_{\text{n}}$. Für die Elektronenwellenfunktion gilt $\Psi_{\text{el}} = \Psi_{\text{el}}(\vec{r}, \vec{R})$ und für die Kernwellenfunktion $\Psi_{\text{n}} = \Psi_{\text{n}}(\vec{R})$, wobei \vec{R} die Kernpositionen und \vec{r} die Elektronenpositionen angibt. Es wird eine feste Kernkonfiguration für die Berechnung der elektronischen Niveaus angenommen. Das bedeutet, dass für Studien des Einflusses der Kernbewegungen, für jede Kernkonfiguration eine erneute Berechnung der elektronischen Niveaus durchgeführt werden muss.

Um einen Übergang von einem elektronischen Zustand in einen anderen zu beschreiben

bedient man sich des Franck-Condon-Prinzips. Hierbei wird angenommen, dass Übergänge der Elektronen deutlich schneller erfolgen als eine Änderung der Kernabstände. In Abbildung 3.1(a) sind zwei elektronische Zustände mit ihrem jeweiligen Vibrationsniveaus abgebildet. In einem solchen Jablonski-Diagramm erfolgen Übergänge zwischen elektronischen Zuständen senkrecht. Je größer der Überlapp des vibronischen Niveaus des Ausgangszustandes und dem des finalen Zustandes ist, desto größer ist die Wahrscheinlichkeit, dass ein Übergang zwischen ihnen erfolgt.

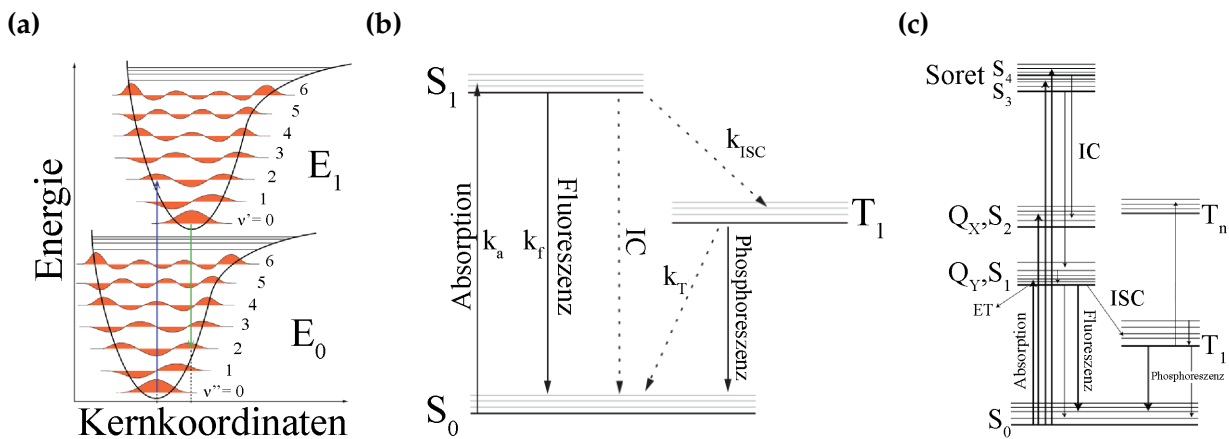


Abbildung 3.1: (a) Schematische Darstellung zweier Potentiale zur Veranschaulichung des Franck-Condon-Prinzips. Aus [128]. (b) Jablonski-Diagramm eines Dreiniveausystems. (c) Jablonski-Diagramm eines Bakteriochlorophyllmoleküls. (vgl. Abschnitt 2.3.1). Aus [128–130]

Ein einfaches Beispiel, dass die Energieniveaus in Falle linearer Spektroskopie veranschaulicht, ist ein Dreiniveausystem, welches zwei Singulett-Zustände, den elektronischen Grundzustand S_0 und den ersten angeregten Zustand S_1 und einen Triplett-Zustand, T_1 , aufweist. Dieser Fall ist in Abbildung 3.1(b) dargestellt, wobei die starken Linien die elektronischen Zustände und die feinen Linien ihre vibronischen Niveaus andeuten. In einem Dreiniveausystem sind mehrere Übergänge möglich: (i) Das System geht von dem elektronischen Grundzustand S_0 in den ersten angeregten Zustand S_1 über. (ii) Das System relaxiert von S_1 nach S_0 unter Aussendung eines Photons. (iii) Das System relaxiert über sogenannte innere Konversion (IC, eng: internal conversion) von S_1 nach S_0 . Diese Relaxation erfolgt

strahlungslos. (iv) Ein weiterer strahlungsloser Zerfall ist das Intersystem-Crossing (ISC), bei dem das System von S_1 nach T_1 übergeht. Dieser Übergang wird erst durch Spin-Orbit-Kopplung erlaubt und ist normalerweise wegen der Spinnultiplizität der S_1 und T_1 Zustände verboten. (v) Der Übergang von T_1 nach S_0 erfolgt unter Emission eines Photons. Dieser Prozess wird Phosphoreszenz genannt. (vi) Das System geht strahlungslos von T_1 nach S_0 über.

Ein Übergang vom elektronischen Grundzustand in einen angeregten Zustand findet in die Vibrationsniveaus des angeregten Zustandes statt. Ein spezieller Fall ist der $0 - 0$ Übergang der einen Übergang von dem vibronischen Grundzustand eines angeregten Zustandes in den vibronischen Grundzustand des elektronischen Grundzustandes bezeichnet. Ein strahlender Zerfall findet nur aus einem vibronischen Grundzustand statt. Dieser Prozess ist unabhängig von der Art der Anregung (Kashas goldene Regel) [131]. Wenn ein solcher Zerfall in höhere vibronische Moden des finalen Zustandes statt findet, ist das emittierte Licht gegenüber der Anregung zu längeren Wellenlängen verschoben. Dieser Umstand wird Stokes-shift genannt.

Der Vollständigkeit halber ist in Abbildung 3.1(c) ein Schema der Energielevel eines Chlorophyll- (Chl) bzw. Bakteriochlorophyllmoleküls (BChl) dargestellt. Im Prinzip wird das in Abbildung 3.1(b) beschriebene Dreiniveausystem sowohl um weitere drei Singulett-Zustände, S_2 , S_3 und S_4 , als auch um eine Anzahl n Triplett-Zustände T_n ergänzt. Die Anregung eines Chl oder BChl Moleküls findet nach diesem Schema in einen der angeregten Singulett-Zustände S_{1-4} statt. Die Relaxation findet über die gleichen Mechanismen statt, die für das Dreiniveausystem bereits beschrieben wurden: innere Konversion (IC), inter-system crossing (ISC), Phosphoreszenz und strahlungslose Übergänge von T_1 nach S_0 .

Um einen elektronisch angeregten Zustand zu erzeugen, muss das anzuregende Molekül in Resonanz mit der anregenden Strahlung sein. Die Wahrscheinlichkeit P , dass ein Photon von einem Molekül absorbiert wird durch das Verhältnis des Absorptionsquerschnitts $\sigma(T)$

(vgl. Gleichung (3.2)) zur ausgeleuchteten Fläche A gegeben (vgl. Gleichung (3.1)).

$$P = \frac{\sigma(T)}{A} \quad (3.1)$$

$$\sigma(T) = C_{\text{FC}} C_{\text{DW}}(T) \frac{\tau_2(T)}{2\tau_{\text{rad}}} \frac{\lambda_0^2}{2\pi} \beta(\theta) \quad (3.2)$$

Hierbei gibt T die Temperatur an. C_{FC} repräsentiert den Franck-Condon-Faktor des $0 - 0$ -Übergangs und C_{DW} den Debye-Waller-Faktor, der durch das Verhältnis der integrierten Intensitäten der Emission eines reinen angeregten, elektronischen Zustandes und der integrierten Intensität des Gesamtspektrums gegeben wird [129, 132]. τ_2 bezeichnet die totale Dephasierungszeit, τ_{rad} die Lebensdauer des angeregten Zustands, λ_0 die Wellenlänge der maximalen Absorption und $\beta(\theta)$ den Faktor, der die Orientierung zwischen dem Übergangsdipolmoment und des anregenden Feldes beschreibt.

3.2 Linienformen und Verbreiterungsmechanismen

Die Intensität eines reinen, elektronischen Übergangs, d. h. der Übergang aus dem ersten angeregten elektronischen Zustands in den elektronischen Grundzustand $S_1 \rightarrow S_0$, in Abhängigkeit der Frequenz ν nimmt die Gestalt einer lorentzförmigen Linie an, die in Gleichung (3.3) beschrieben ist [133].

$$I(\nu - \nu_0) = \frac{1}{2\pi} \frac{\Delta\nu_{\text{hom}}}{(\nu - \nu_0)^2 + \left(\frac{\Delta\nu_{\text{hom}}}{2}\right)^2} \quad (3.3)$$

μ_0 ist die zentrale Frequenz des Übergangs und $\Delta\nu_{\text{hom}}$ die homogene Linienbreite die sich umgekehrt proportional zur Dephasierungszeit τ_2 verhält (vgl. Gleichung (3.2)). Letzte ist wiederum eine Funktion der der Lebensdauer τ_1 und der reinen Dephasierungszeit τ_2^* (vgl. Gleichung (3.4)).

$$\Delta\nu_{\text{hom}} = \frac{1}{\pi\tau_2(T)} = \frac{1}{2\pi\tau_1} + \frac{1}{\pi\tau_2^*(T)} \quad (3.4)$$

Die reine Dephasierungszeit τ_2^* ist die Zeit, in der die Kohärenz der elektronischen Anregung durch Wechselwirkungen mit der Umgebung abgeklungen ist. Diese Zeit nimmt mit der Verringerung der Temperatur T ab, so dass sie bei cryogenen Temperaturen von unter 2 K vernachlässigt werden kann. Dementsprechend ist τ_1 der einzige Parameter, der die Linienbreite bei sehr geringen Temperaturen beeinflusst [134].

Die Übergangsenergien verschiedener, individueller Pigmentmoleküle unterscheiden sich üblicherweise aufgrund unterschiedlicher lokaler Umgebungen, die jedes einzelne Molekül wahrnimmt. Die energetische Verschiebung der zentralen Übergangsfrequenz bezogen auf eine mittlere Übergangsfrequenz wird als inhomogene Verbreiterung bezeichnet [135, 136]. Das Absorptionsspektrum eines Ensembles an Pigmentmolekülen ist dementsprechend inhomogen verbreitert.

3.3 Molekulare Exzitonen

Elektronische Anregungen supramolekularer Molekülaggregate können durch das Modell der Frenkel-Exzitonen beschrieben werden [106, 108, 111–114, 119, 137, 138]. Hierbei handelt es sich um eine kollektive Anregung interagierender, benachbarter Moleküle. Die optischen Eigenschaften dieser Exzitonen hängen empfindlich von den Wechselwirkungen und Orientierungen der Moleküle des Aggregates ab. Unter Vernachlässigung des Überlapps der Elektronenwellenfunktionen und einer Punktdipolnäherung ist die Wechselwirkung V_{nm} der Übergangsdipole n und m durch die Gleichungen (3.5) bis (3.7) gegeben.

$$V_{nm} = \frac{1}{4\pi\epsilon\epsilon_0} \cdot \frac{\vec{\mu}_n \cdot \vec{\mu}_m}{|\vec{r}_{nm}|^3} - 3 \frac{(\vec{\mu}_n \cdot \vec{r}_{nm})(\vec{\mu}_m \cdot \vec{r}_{nm})}{|\vec{r}_{nm}|^5} \quad (3.5)$$

$$= \frac{\mu^2}{4\pi\epsilon\epsilon_0} \cdot \frac{1}{r_{nm}^3} \cdot \kappa \quad (3.6)$$

$$= \frac{V_0}{r_{nm}^3} \cdot \kappa \quad (3.7)$$

$\vec{\mu}_n$ und $\vec{\mu}_m$ bezeichnen dabei die Übergangsdipolmomente der Pigmente n und m und \vec{r}_{nm} ihren Richtungsvektor (vgl. Abbildung 3.2(a)). ϵ_0 repräsentiert die elektrische Permittivität des Vakuums (elektrische Feldkonstante) und ϵ die dielektrische Konstante des Mediums, welches die Pigmente umgibt. κ wird als Orientierungsfaktor bezeichnet. Aus den Gleichungen (3.5) bis (3.7) ist ersichtlich, dass die Wechselwirkung zwischen Pigmenten (unter den erwähnten Näherungen) V_{nm} bedeutend von ihrer Anordnung zueinander beeinflusst wird [130, 139].

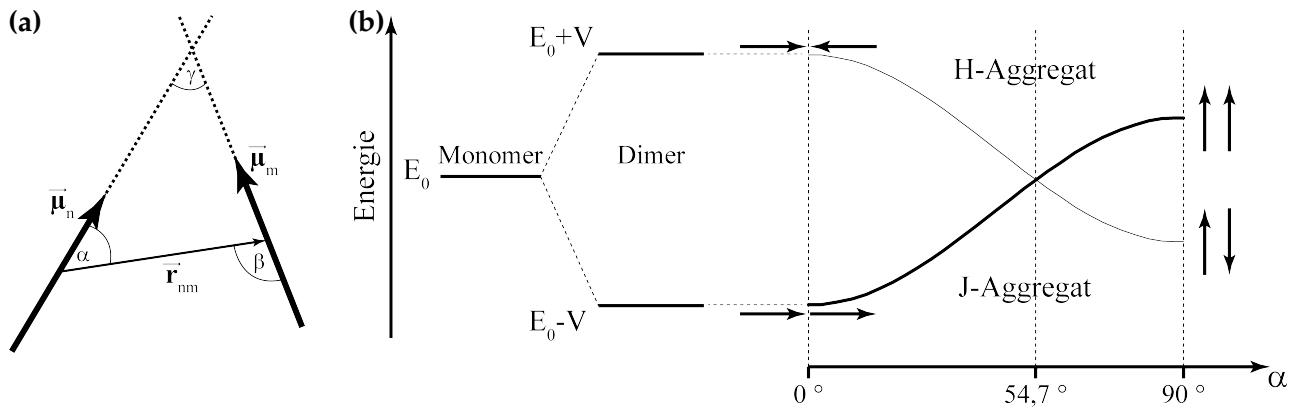


Abbildung 3.2: (a) Zwei Dipole $\vec{\mu}_n$ und $\vec{\mu}_m$ und deren Richtungsvektor \vec{r}_{nm} in einer Ebene. (b) Einteilung von J- und H-Aggregaten. Es ist die Entwicklung der Übergangsenergien eines Dimers in Abhängigkeit des Scherwinkels α in Bezug auf die Übergangsenergie eines Monomers E_0 dargestellt. Die optisch erlaubten Übergänge sind durch die durchgehende, starke Linie angedeutet. Nach [130].

Abbildung 3.2(b) zeigt Aufspaltung der Energieniveaus eines Dimers, bestehend aus zwei benachbarten Dipolen, in Abhängigkeit ihrer Orientierung zueinander. Angenommen der Scherwinkel α beider Dipole ist gleich, bezogen auf ihren Richtungsvektor \vec{r}_{nm} und dass beide

Dipole das gleiche Übergangsdipolmoment besitzen $\mu_n = \mu_m$, dann lassen sich die aus der Wechselwirkung resultierenden exzitonischen Energieniveaus durch den in Gleichung (3.8) gegebenen Ausdruck beschreiben.

$$E_{1,2} = E_0 \pm V = E_0 \pm \frac{V_0}{r_{nm}^3} (1 - 3 \cos^3(\alpha)) \quad (3.8)$$

Nur einer der entstehenden Übergänge ist optisch erlaubt und besitzt 100 % der Oszillatorenstärke. Ob die Energie des Zustandes des erlaubten Überganges angehoben oder abgesenkt, bezogen auf die Übergangsenergie eines einzelnen Dipols E_0 , wird, hängt von der Wechselwirkung V_{nm} und damit ihrer Orientierung zueinander ab. Im Falle einer Absenkung wird das Aggregat als J-Aggregat, im Falle einer Erhöhung als H-Aggregat bezeichnet [130, 140–143].

3.3.1 J-Aggregate

Im Folgenden werden drei Strukturen besprochen, die J-Aggregate ausbilden. Die ersten beiden Fälle, eine lineare Kette und ein zirkulares Aggregat, bilden hierbei die Grundlage für analytische Berechnungen der dritten Struktur, einen Zylinder.

Lineares Aggregat

Elektronisch angeregte Zustände eines linearen Aggregates (lineare Kette), das aus Übergangsdipolmomenten konstruiert ist, wird durch einen Frenkel-Exziton-Hamiltonian unter Heitler-London-Näherung beschrieben. In diesem Fall ist die lineare Kette aus N identischen Zweiniveausystemen (TLS: two level systems) mit einem Grundenergieniveau von E_0 aufgebaut. Im Rahmen der Berechnungen ist nur eine gleichzeitige Anregung des Gesamtsystems erlaubt und Phononen werden vernachlässigt. Der Hamiltonian ist in Gleichung (3.9) gezeigt.

$$H = \sum_{n=1}^N (E_0) |n\rangle \langle m| + \frac{1}{2} \sum_{n=1}^N \sum_{n \neq m} V_{nm} |n\rangle \langle m| \quad (3.9)$$

$\langle n|, |m\rangle$ und V_{nm} beschreiben die lokalisierten Anregungen der Zweiniveausysteme n und m und deren Wechselwirkung. Unter der Annahmen der Nächsten-Nachbar-Wechselwirkung, Dipol-Dipol-Näherung, Translationssymmetrie und der Randbedingung, dass keine Anregung außerhalb der linearen Kette existiert, erhält man eine exakte Lösung der Eigenfunktionen des Hamiltonians [113, 144]:

$$|k\rangle = \sqrt{\frac{2}{N+1}} \sum_{n=1}^N \sin\left(\frac{\pi kn}{N+1}\right) |n\rangle \quad (3.10)$$

und deren zugehörige Eigenzustände

$$E_k = E_0 + 2V \cos\left(\frac{\pi k}{N+1}\right) \quad (3.11)$$

wobei die Quantenzahl $k = 1 \dots N$ die Translationssymmetrie des Aggregates beschreibt. Die Oszillatorenstärke der Eigenzustände beträgt Null für gerade k und für ungerade k wird sie durch Gleichung 3.12 beschrieben.

$$|\vec{\mu}_k|^2 = \left(\frac{2\mu_{\text{Mon}}}{N+1}\right) \cot^2\left(\frac{\pi k}{2(N+1)}\right) \quad (3.12)$$

Dabei gilt $\mu_{\text{Mon}} = |\vec{\mu}_n|$ und $\vec{\mu}_k = \mu_{\text{Mon}} \sum_{n=1}^N a_{kn} \hat{\mu}_n$, wobei $\hat{\mu}_n$ den Einheitsvektor des n -ten Elements beschreibt. Es wurde herausgefunden, dass das gesamte System als ein einzelnes Mehrniveausystem betrachtet werden kann (unter der Annahme, dass $N \gg 1$), deren Großteil der Oszillatorenstärke, 81 %, sich im Eigenzustand der Quantenzahl $k = 1$ befindet [113].

Zirkulares Aggregat

Ein zirkulares oder ringförmiges Aggregat kann durch eine lineare Kette mit periodischen Randbedingungen konstruiert werden. In diesem Fall erhält man, wie auch im vorangegangenen Fall, exakte, analytische Lösungen des Hamiltonians aus Gleichung (3.9):

$$|k\rangle = \frac{1}{\sqrt{N}} \sum_{n=1}^N \exp\left(2\pi i k \frac{n}{N}\right) |n\rangle \quad (3.13)$$

mit den zugehörigen Eigenzuständen

$$E_k = E_0 + \frac{1}{2} \sum_{n=1}^N \sum_{m \neq n} V_{nm} \exp\left(2\pi i k \frac{n-m}{N}\right) \quad (3.14)$$

Hierbei gilt $k = 0, \pm 1, \pm 2, \dots, \pm \frac{N}{2}$ für gerade N und $k = 0, \pm 1, \pm 2, \dots, \pm \frac{N-1}{2}$ für ungerade N [113, 119, 144]. Die resultierenden Energielevel eines planaren, zirkularen Aggregats sind, mit Ausnahme von $k = 0$ und $k = \frac{N}{2}$, paarweise entartet. Exzitonische Übergangsdipolmomente $\vec{\mu}_k$ eines Übergangs zwischen dem Grundzustand $|g\rangle$ und einem Exzitonenzustand $|k\rangle$ werden nach Gleichung (3.15) berechnet [145].

$$\vec{\mu}_k = \frac{1}{\sqrt{k}} \sum_{n=1}^N \exp\left(2\pi i k \frac{n}{N}\right) \vec{\mu}_n \quad (3.15)$$

wobei $\vec{\mu}_n$ dem Übergangsdipolmoment zwischen dem Grundzustand und dem angeregten Zustand des n -ten Elements entspricht. $\hat{\mu}$ bezeichnet den Dipoloperator und $|\vec{\mu}_k|^2$ die Oszillatorenstärke eines Zustandes mit dem zugehörigen exzitonischen Übergangsdipolmoment $\vec{\mu}_k$.

Die Oszillatorenstärke eines planaren, zirkularen Aggregates ist größtenteils in den Zuständen der Quantenzahlen $k = \pm 1$ enthalten. Die Übergänge aus dem Grundzustand in einen der beiden Zustände sind orthogonal zueinander und parallel zur Ringebene polarisiert. Der $k = 0$ Zustand besitzt keine Oszillatorenstärke, wenn die Übergangsdipolmomente innerhalb

der Ringebeane des Aggregates liegen. Sobald sie aus der Ringebeane heraus rotiert werden, nimmt die Oszillatorenstärke des $k = 0$ Zustands einen von Null verschiedenen Wert an. Das ist intuitiv verständlich, denn der Übergang aus dem Grundzustand in den $k = 0$ Zustand ist orthogonal zu den zuvor beschriebenen Übergängen und damit orthogonal zur Ringebeane polarisiert [130, 145].

Zylindrisches Aggregat

Ein zylindrisches Aggregat kann als Kombination der beiden zuvor beschriebenen Strukturen angesehen werden. In diesem Fall wird eine Lineare Kette aus N_1 übereinander gestapelten Ringaggregaten konstruiert. Die Ringe sind dabei äquidistant arrangiert und bestehen jeweils aus N_2 Dipolen. Diese Zylinderaggregate wurden bereits ausgiebig untersucht [113, 114, 116, 117, 119, 146]. Für ein derartiges, ungestörtes Aggregat konnten analytische Lösungen des Hamiltonians gefunden werden:

$$|k_1, k_2\rangle = \sqrt{\frac{2}{(N_1 + 1)N_2}} \sum_n \sin(\pi k_1 \frac{n_1}{N_1 + 1}) \cdot \exp(2\pi i k_2 \frac{n_2}{N_2}) |n\rangle \quad (3.16)$$

Dabei gilt $n_1 = 1 \dots N_1$ und $n_2 = 1 \dots N_2$. Die resultierenden Exzitonenzustände werden im Falle dieses dreidimensionalen Aggregates durch zwei Quantenzahlen, k_1 und k_2 , beschrieben $|k\rangle = |(k_1, k_2)\rangle$, wobei k_1 den linearen Anteil und k_2 den planaren Anteil beschreibt. Im Falle der linearen Kette befand sich der Großteil der Oszillatorenstärke im $k = 1$ Zustand. In diesem Fall ist dieser durch den $k_1 = 1$ Zustand beschrieben. Im Fall des zirkularen Aggregat gibt es drei Zustände, die signifikante Oszillatorenstärke besitzen: $k = 0$ und $k = \pm 1$, bzw. $k_2 = 0$ und $k_2 = \pm 1$. Für das zylindrische Aggregat folgt daraus, dass drei Zustände ausgeprägter Oszillatorenstärke auftreten: $(1, 0)$, $(1, -1)$ und $(1, +1)$, wobei die letzten zwei entartet sind. Der Übergang vom Grundzustand in den $(1, 0)$ Zustand ist parallel zur langen Achse des Zylinders polarisiert, wohingegen die Übergänge in die $(1, -1)$ und $(1, +1)$ Zustände sowohl

zum Übergang in den $(1, 0)$ Zustand, als auch zueinander orthogonal polarisiert sind.

3.4 CD Spektroskopie

Zirkulardichroismusspektroskopie (CD Spektroskopie) ist ein mächtiges Werkzeug zur Erforschung helikaler Eigenschaften von Molekülen oder molekularer Aggregate [147–151]. Aufgrund der Helizität bzw. Händigkeit molekularer Aggregate unterscheiden sich deren Absorptionen von links- bzw. rechts zirkular polarisiertem Licht. Dementsprechend ist das CD Spektrum als Unterschied der Absorptionsspektren definiert, welche mit links- bzw. rechts zirkular polarisierter Anregung aufgenommen wurden (Gleichung 3.17).

$$CD \equiv A_l - A_r \quad (3.17)$$

In Analogie zur Dipolstärke $D_{if} = \langle \phi_i | \hat{\mu}_{if} | \phi_f \rangle \cdot \langle \phi_f | \hat{\mu}_{if} | \phi_i \rangle$, die einen linearen elektronischen Übergang aus einem Grundzustand i in einen angeregten Zustand f charakterisiert, wurde die Rotationsstärke R_{if} definiert (Gleichung (3.18)), die einen durch zirkular polarisiertes Licht induzierten Übergang induziert [148, 151].

$$R_{if} = \Im \left\{ \langle \phi_i | \hat{\mu}_{if} | \phi_f \rangle \cdot \langle \phi_f | \hat{m}_{if} | \phi_i \rangle \right\} \quad (3.18)$$

$\hat{\mu}_{if}$ und \hat{m}_{if} bezeichnen den elektrischen und magnetischen Dipoloperator und $|\phi_i\rangle$ bzw. $|\phi_f\rangle$ die Wellenfunktionen des Anfangs- bzw. Endzustandes.

Ein elektrischer Übergang erzeugt eine lineare Ladungsverschiebung, ein magnetischer Übergang eine zirkulare. Dementsprechend bewirkt eine Überlagerung beider Übergänge eine helikale Ladungsverschiebung [148, 152].

Der Quantenmechanische Ausdruck der Rotationsstärke eines Dimers ist in Gleichung (3.19) gegeben. Der Ausdruck kann in drei Terme unterteilt werden: (i) den Ein-Elektronen Term, (ii) die elektromagnetische (em) Kopplung und (iii) den Exziton Term .

$$\begin{aligned}
 R_{if}^{\pm} = \Im \left\{ \underbrace{\frac{1}{2} (\vec{\mu}_{if}(1)\vec{m}_{if}(1) + \vec{\mu}_{if}(2)\vec{m}_{if}(2))}_{\text{(i): Ein-Elektronen Term}} \pm \underbrace{\frac{1}{2} (\vec{\mu}_{if}(1)\vec{m}_{if}(2) + \vec{\mu}_{if}(2)\vec{m}_{if}(1))}_{\text{(ii): em Kopplung}} \right\} \\
 \mp \underbrace{\frac{\pi\nu_{if}}{2c} |\vec{r}_{12}| \cdot (\vec{m}_{if}(1) \times \vec{m}_{if}(2))}_{\text{(iii): Exziton Term}}
 \end{aligned} \tag{3.19}$$

$\vec{\mu}_{if}$ und \vec{m}_{if} werden dabei den elektrischen und magnetischen Übergangsdipolmomenten zugeordnet und $|\vec{r}_{12}|$ dem Abstand der Zentren der Monomere. ν_{if} bezeichnet die Übergangsfrequenz, die notwendig ist um den Übergang aus dem Ausgangszustand i in den finalen Zustand f zu ermöglichen. c repräsentiert die Lichtgeschwindigkeit.

4 Materialien und Methoden

4.1 Setup

Um Fluoreszenz-Anregungsspektren einzelner Chlorosome aufzunehmen wurde ein Eigenbaumikroskop verwendet, das in zwei unterschiedlichen Konfigurationen betrieben werden kann: (i) als konfokales Mikroskop und (ii) als Weitfeldmikroskop. Der folgenden Abschnitte beschreiben sowohl die Funktionsweise beider Konfigurationen, als auch die individuellen Komponenten des Mikroskops.

4.1.1 Das Optische Mikroskop

Eine schematisches Konzept des optischen Mikroskops ist in Abbildung 4.1 dargestellt. Detaillierte Beschreibungen der einzelnen Komponenten folgen in Abschnitt 4.1.2.

Die im Kryostaten befindliche Probe wird durch das eines Ti:Sa Lasers emittierte Licht angeregt. In der konfokalen Konfiguration wird das Licht durch eine Strahlaufweitung, einen Clean up Filter (nur bei Aufnahmen des *bchR* Mutanten verwendet) und eine variable OD auf einen Glaskeil geleitet. Dieser transmittiert 96 % des Anregungslichtes, das dann von einem Powermeter detektiert und als Referenz zur Normierung der Spektren verwendet wird. 4 % werden auf den Scanspiegel reflektiert und von dort durch ein telezentrisches Linsensystem und eine $\frac{\lambda}{2}$ -Wellenplatte in den Kryostaten geleitet. Ein dort befindliches Objektiv fokussiert den Anregungsstrahl auf die Probe. Ihre Fluoreszenz wird wiederum von dem gleichen Objektiv eingesammelt und folgt dem optischen Pfad der Anregung in gegenläufiger Richtung

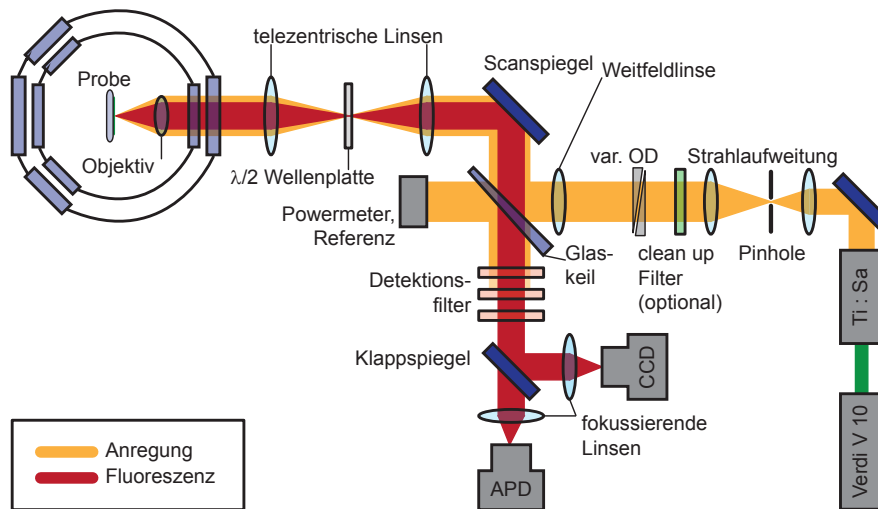


Abbildung 4.1: Schematische Darstellung des optischen Mikroskops.

bis hin zum Glaskeil. Die transmittierte Fluoreszenz passiert dann die Detektionsfilter, die undurchlässig für das vom Probenträger reflektierte Laserlicht sind. Eine Linse ($f = 60 \text{ mm}$) fokussiert das ankommende Signal auf den Chip einer Avalanchephotodiode (APD).

Bevor das Spektrum eines einzelnen Komplexes aufgenommen werden kann, muss seine Position auf dem Probenträger bestimmt werden. Dazu werden ein Spiegel vor der APD, der die Fluoreszenz zu einer CCD Kamera umlenkt und eine zusätzliche Linse, die Weitfeldlinse ($f = 160 \text{ mm}$), zwischen dem Glaskeil und der variablen OD in den Strahlengang integriert. Die Linse bewirkt eine Defokussierung des Laserstrahls in der Probenebene, sodass eine ausgedehnte Fläche auf der Probe beleuchtet wird und sämtliche Komplexe in dieser Fläche angeregt werden. Das Bild dieser beleuchteten Fläche, über welches die Positionen einzelner Komplexe bestimmt werden, wird mit der CCD Kamera aufgenommen. Ein Weitfeldbild ist in Abbildung 4.2 dargestellt, auf dem deutlich separierte Komplexe zu erkennen sind.

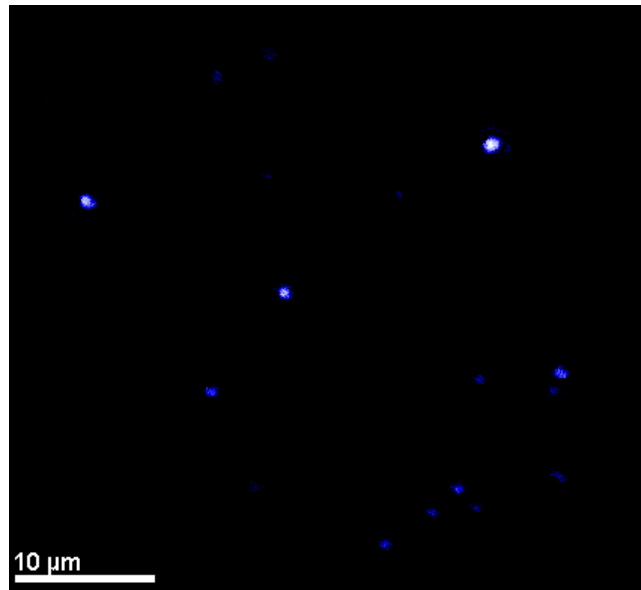


Abbildung 4.2: Weitfeldbild einer stark verdünnten Chlorosomprobe des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum*.

4.1.2 Komponenten

Lichtquelle

Als Lichtquelle wird ein Ti:Sa (Titan:Sapphire) Laser (Coherent, 899-01 configuration¹) verwendet, dessen Frequenz durchstimmbar ist und der mit einer Leistung von 10 W bei einer Wellenlänge von 532 nm von einem frequenzverdoppelten Nd:YVO₄ Dauerstrichlaser (Coherent, Verdi V10) gepumpt wird. Die Durchstimmbarkeit der Frequenz wird durch ein drehbares doppelbrechendes Filter, das in der Cavity des Lasers integriert ist und dessen Lagerung durch eine motorisierte Mikrometerschraube (Nanomover, Melles Griot) angetrieben wird, realisiert. Mit dieser System werden Frequenzen zwischen 12 570 cm⁻¹ und 14 000 cm⁻¹ erreicht. Das entspricht einem Wellenlängenbereich von 795 nm bis 715 nm. Nach einer Rejustierung wurden Frequenzen hoch bis 14 370 cm⁻¹ (696 nm). Die Frequenz wurde in allen Experimenten mit einer Rate von 47 cm⁻¹ s (≈ 2,8 nm s⁻¹) durchgestimmt. Sowohl

¹899-01: broadband configuration; 899-21: active monomode configuration; 899-29: autoscan configuration (accuracy and repeatability of (210 ± 50) MHz)

die Genauigkeit als auch die Reproduzierbarkeit der Frequenz beträgt 1 cm^{-1} und wurde durch ein Frequenz- bzw. Wellenlängenmessgerät (Coherent, WaveMaster) überprüft. Eine TEM_{00} Mode sowie eine vertikale Polarisation des emittierten Lichtes wurde ebenfalls für alle Frequenzen verifiziert.

Strahlaufweitung

Um eine volle Ausleuchtung der hinteren Apertur des vor der Probe befindlichen Objektives zu gewährleisten ist es nötig den Laserstrahl aufzuweiten. Dies geschieht durch zwei konfokal angeordnete Linsen verschiedener Brennweiten, nämlich $f_1 = 30\text{ mm}$ und $f_2 = 50\text{ mm}$. Ein in ihrem gemeinsamen Fokuspunkt integriertes Pinhole ($\varnothing = 80\text{ }\mu\text{m}$) übernimmt die Funktion eines Raumfilters.

Variable OD

Die variable OD ist ein durchstimmbarer Graufilter, der aus zwei gegenläufigen, keilförmigen Graufiltern aufgebaut ist. Durch die Verschiebung der Keile gegeneinander ist es möglich den Weg, der durch sie hindurch zurück gelegt werden muss entweder zu verlängern oder zu verkürzen. Die Intensität des Lichts ist dementsprechend, je nach Positionierung der beiden Keile zueinander, abgeschwächt.

Clean up Filter

Dieser Bandpassfilter (BP 736/128, AHF Analysetechnik) befindet sich vor der variablen OD und hemmt die Fluoreszenz des Ti:Sa Kristalls zur Gewährleistung einen geringeren Hintergrundsignals. Dieser Filter wurde ausschließlich für die Messungen an Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten verwendet.

Scanspiegel und telezentrisches Linsensystem

Der Scanspiegel ist hängend in einem Kardanrahmen montiert. Die Neigungen dieser Anordnung werden über zwei motorisierte Mikrometerschrauben (Nanomover, MellesGriot) kontrolliert. In Kombination mit einem telezentrischen Linsensystem ist es möglich den Fokuspunkt ohne Abschattungseffekte auf der Probe zu verschieben.

Detektionsfilter

Die Detektionsfilter gewährleisten, dass vom SiO₂-Glassubstrat reflektiertes Anregungslicht geblockt und nur die von der Probe stammende Fluoreszenz transmittiert wird. Es wurden zwei verschiedene Filter-Sets verwendet: (i) drei Bandpassfilter BP 850/80 (AHF, Analysetechnik) und (ii) zwei Langpassfilter LP 780 (AHF, Analysetechnik). Die Langpassfilter wurden dabei ausschließlich bei Messungen des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten verwendet.

$\frac{\lambda}{2}$ – Wellenplatte

Die $\frac{\lambda}{2}$ – Wellenplatte befindet sich zwischen den telezentrischen Linsen und rotiert die Polarisation der Anregungsstrahlung. Zur Aufnahme von polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren wird es stufenweise in Schritten von 1,5° gedreht. Das entspricht einer Rotation der Polarisation der anregenden Strahlung um 3°.

Kryostat und Objektiv

Der Kryostat besteht aus vier Kammern (von außen nach innen): (i) das erste Isolationsvakuum ($\sim 10^{-7}$ mbar), (ii) die Kammer für flüssigen Stickstoff, (iii) das zweite Isolationsvakuum ($\sim 10^{-7}$ mbar) und (iv) das Heliumbad. Im Heliumbad findet eine Dampfdruckerniedrigung des flüssigen ⁴He statt, worüber Temperaturen zwischen 1,2 K und 1,5 K an der Probe

erreicht werden.

Das Insert ist ein längliches Objekt, das sowohl zur Versiegelung des Kryostaten als auch als Probenhalter dient. Der Probenhalter befindet sich dabei am unteren Ende des Inserts und kann durch eine Mechanische Übersetzung von der Außenseite des Kryostaten lateral und axial zum Objektiv bewegt werden.

Das Objektiv fokussiert die Anregungsstrahlung auf die Probe und sammelt die von der Probe emittierte Fluoreszenz ein. Die Messungen an Wildtyp Chlorosomen des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum* wurden mit einem handelsüblichen Mikrothek Objektiv ($NA = 0.85$) durchgeführt. Dieses Objektiv musste wegen Beschädigung des Klebstoffes durch die Abkühlungszyklen im Laufe der Messreihe an Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten durch ein handelsübliches Objektiv der Firma Edmund Optics mit gleichen Spezifikationen ersetzt werden.

Detektoren

Zur Aufnahme der Fluoreszenz der Probe wurden zwei Detektoren verwendet: (i) eine CCD Kamera, Andor LUCA^{EM} R 604 und (ii) eine Avalanchephotodiode (APD), SPCM-AQR-15, EG&G mit einer Chipgröße von 170 μm und einer Dunkelzählrate von 50 Ereignissen pro Sekunde. Die CCD Kamera dient zur Lokalisierung einzelner Komplexe auf dem Probenträger und zur Verifikation, dass benachbarte Komplexe eine ausreichende räumliche Separation voneinander aufweisen, sodass mit der APD nicht die Fluoreszenz zweier Komplexe gleichzeitig aufgenommen wird. Die APD detektiert emittierte Photonen einzelner Komplexe bei gleichzeitigem durchstimmen der Laserfrequenz. Aufgrund der Tatsache, dass die Laserfrequenz zu jedem Zeitpunkt bekannt ist, wird die aufgenommene Intensität in Abhängigkeit der eingestrahnten Photonenenergie aufgenommen.

4.2 Probenpräparation

4.2.1 Wildtyp Chlorosome

Die Probenpräparation der *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp Chlorosome erfolgte wie in Referenz [153] beschrieben: Zellen wurden von Wildtyp *Chlorobaculum tepidum* des Bakterienstamms TLS (ATCC 49652) in der Arbeitsgruppe von Professor Thijs J. Aartsma (Universität Leiden) abgeerntet und mit Lysozym inkubiert. Danach wurden die Zellen mittels einer French-Press getrennt. Das Zellenhomogenisat wurde durch Zentrifugation bei niedrigen Drehzahlen gereinigt und anschließend ein mit Chlorosomen angereicherter Teil durch Ultrazentrifugation abgetrennt. Der verbliebene Niederschlag wurde dann in einer Pufferlösung (50 mM Tris/HCl, 10 mM Na-Ascorbat, pH 8.3 bei Raumtemperatur) resuspendiert und weiter durch einen kontinuierlichen Zuckergradienten (20 % bis 50 %) aufbereitet. Dadurch entstanden zwei dunkelgrüne Bakteriochlorophyll enthaltende Teile (unteres und oberes Band). Chlorosome beider Banden wurden wiederum mit der genannten Pufferlösung verdünnt und zweimal zentrifugiert. Die endgültigen Niederschläge, die aus beiden Banden erhalten wurden, bestanden aus einem freien Teil (bezeichnet als leichte Chlorosome) am oberen Ende eines festen Teils (bezeichnet als schwere Chlorosome). Für die in dieser Arbeit durchgeführten Experimente wurden leichte Chlorosome der oberen Bande verwendet. Zur Aufnahme der Ensemblespektren wurde die Stammlösung bis zu einer optischen Dichte von 0,1 (OD 0,1) bei 733 nm verdünnt. Im Fall der Messungen an einzelnen Komplexen wurde die Stammlösung bis zu einer Konzentration von $1,1 \cdot 10^{-3}$ M mit dem entsprechenden Puffer verdünnt. Ein Tropfen (10 μ l) dieser Lösung wurde unter Stickstoffatmosphäre für 30 min auf einem SiO₂ Glassubstrat adsorbiert.

4.2.2 Chlorosome des *bchR* Mutanten

Der *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutant wurde bereits in Kapitel 2 beschrieben. Zur experimentellen Verwendung wurden Chlorosome einer Stammlösung, die durch die Arbeitsgruppe von Professor Donald A. Bryant (Penn State University) zur Verfügung gestellt wurden, auf die gleiche Weise behandelt wie die des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp (siehe Abschnitt 4.2.1). Die Proben wurden in einem PBS (phosphate buffered saline: phosphatgepufferte Salzlösung) Puffer (10 mM Kaliumphosphat und 150 mM NaCl, pH 7,2 bei Raumtemperatur) mit 1 mM PMSF (Phenylmethylsulfonylfluorid) und 2 mM DTT (Dithiothreitol) aufbewahrt und mit selbigem verdünnt.

5 Experimentelle Daten

Im folgenden Kapitel werden die Aufnahme und Auswertung der experimentell Daten beschrieben. Zuerst wurden Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp und *bchR* Mutanten durch Fluoreszenz-Anregungs-, Absorptions- und Emissionsspektroskopie an Ensembleproben charakterisiert. Danach wurden Fluoreszenz-Anregungsspektren von einzelnen *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp Chlorosomen sowohl bei Raumtemperatur, als auch bei tiefen Temperaturen (1,5 K) aufgenommen, um sie anschließend miteinander zu vergleichen. Weiterhin wurden Fluoreszenz-Anregungsspektren einzelner Chlorosome bei tiefen Temperaturen zur Auswertung mit einer globalen Analyse aufgenommen. Anschließend wurden Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten aufgenommen und mittels der vorher genannten globalen Analyse ausgewertet. Jeder der vier untergeordneten Abschnitte wird von einer eigenständigen, kurzen Diskussion abgeschlossen.

5.1 Vorläufige Messungen

In diesem Abschnitt werden sowohl die *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp, als auch die des *bchR* Mutanten durch Messungen an Ensembleproben charakterisiert. Die entsprechenden Fluoreszenz-Anregungs-Ensemblemessungen bei tiefen Temperaturen werden mit dem Summenspektren der in späteren Abschnitten folgenden Einzelkomplexmessungen verglichen.

5.1.1 Ensemblespektren der Wildtyp *Chlorobaculum tepidum* Chlorosome

Um Chlorosome des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum* zu charakterisieren wurden vorläufige Messungen an Ensembles durchgeführt. Dazu wurden sowohl Absorptions- als auch Fluoreszenz-Emissionsspektren mit handelsüblichen Spektrometern aufgenommen. Beide Spektren sind in Abbildung 5.1(a) dargestellt.

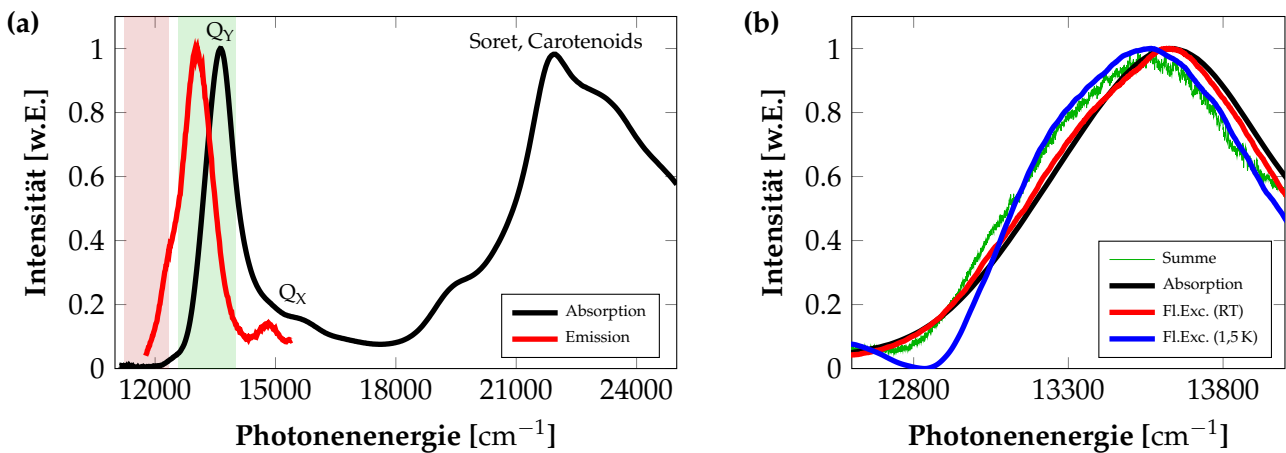


Abbildung 5.1: Ensemble- und Summenspektrum von 102 individuellen Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum* wild type. (a) Raumtemperatur Absorptions- (schwarz) und Emissionsspektrum (rot). Die in grün und rot farblich hinterlegten Flächen deuten die Anregungs- und Detektionsintervalle der Fluoreszenz-Anregungsexperimente an. (b) Erweiterter Ausschnitt des in (a) grün hinterlegten Bereichs. Absorptions- (schwarz) und Fluoreszenz-Anregungsspektren (Fl.Exc.) bei Raumtemperatur (RT, rot) und 1,5 K (blau) aufgenommen. Die Absorptionsspektren (schwarz) aus (a) und (b) sind identisch.

Die schwarze Linie zeigt das Absorptionsspektrum, die rote das Emissionsspektrum. Der in orange unterlegte Bereich deutet die Transmission der Detektionsfilter (BP 850/80) an und bestimmt das spektrale Intervall (von 12 346 cm^{-1} bis 11 236 cm^{-1}) in dem die Fluoreszenz der Probe detektiert werden kann. Der grün unterlegte Sektor (von 12 570 cm^{-1} bis 14 000 cm^{-1}) entspricht dem spektralen Bereich, über den der Laser durchgestimmt werden kann (vgl. Kapitel 4.1).

Die Hauptabsorptionsbande ist bei einer Photonenenergie von 13 623 cm^{-1} lokalisiert und ist dem Q_Y Übergang der BChl *c* Moleküle zugeordnet. Diese ist im Vergleich zu monomer

vorliegendem BChl *c* um ungefähr 1370 cm^{-1} zu niedrigeren Energien verschoben (vgl. Abbildung 2.2(b)) und weist zwei Schultern auf. Die Schulter bei höheren Energien entspricht dem Q_x Übergang der BChl *c* Moleküle und befindet sich an einer spektralen Position von ungefähr $15\,370\text{ cm}^{-1}$, wohingegen die Schulter bei niedrigeren Energien von $12\,390\text{ cm}^{-1}$ dem CsmA-BChl *a* Baseplate Komplex zugeordnet ist. Das Absorptionsspektrum der Wildtyp *Chlorobaculum tepidum* Chlorosome stimmt gut mit den in der Literatur zu findenden Angaben überein [15, 49, 50, 154].

Das Fluoreszenzspektrum weist ihr globales Maximum an einer spektralen Position von $13\,038\text{ cm}^{-1}$ auf und wird von einer Schulter bei geringeren Energien begleitet. Das globale Maximum hat seinen Ursprung in der Fluoreszenz der BChl Molekülaggregate, wohingegen die Schulter der Fluoreszenz der Baseplate zugeordnet werden kann. Ein lokales Maximum bei $14\,837\text{ cm}^{-1}$ geht aus den Q_x Übergangsdipolmomenten der aggregierten BChl Monomere hervor.

Abbildung 5.1(b) zeigt den spektralen Bereich von $12\,600\text{ cm}^{-1}$ bis $14\,000\text{ cm}^{-1}$ aus Abbildung 5.1(a) im Detail. Die in schwarz abgebildeten Spektren sind dabei identisch. Die in rot und blau dargestellten Kurven stellen die Ensemble Fluoreszenz-Anregungsspektrum, aufgenommen bei Raumtemperatur (rot) bzw. bei 1,5 K (blau) dar. Das Summenspektrum aus allen individuell vermessenen Komplexen (s. unten) ist in grün dargestellt. Alle in Abbildung 5.1(b) gezeigten Spektren wurden mit dem in Kapitel 4.1 beschriebenen Aufbau aufgenommen.

Es ist ersichtlich, dass das Ensemble Fluoreszenz-Anregungsspektrum (rot), aufgenommen mit dem zuvor genannten Aufbau bei Raumtemperatur und das Ensemble Absorptionsspektrum (schwarz), ebenfalls aufgenommen bei Raumtemperatur mit einem handelsüblichen Absorptionsspektrometer sehr gut übereinstimmen. Das Tieftemperatur-Fluoreszenz-Anregungsspektrum der Ensembleprobe (blau) ist um 80 cm^{-1} gegenüber dem bei Raumtemperaturen aufgenommenem Fluoreszenz-Anregungsspektrum (rot) zu niedrigeren Energien

verschoben. Das Summenspektrum (grün) aus 102 vermessenen einzelnen Chlorosomen stimmt ebenfalls relativ gut mit dem Tieftemperatur Ensemble Fluoreszenz-Anregungsspektrum (blau) überein.

5.1.2 Ensemblespektren von Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten

Es wurden Absorptions- und Emissionsspektren an Ensembles des *bchR* Mutanten des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum* gemessen. Die Spektren sind in Abbildung 5.2(a) dargestellt. Die farblich unterlegten Flächen entsprechen den Bereichen der Anregung (grün) und der Detektion (rot) für den Fall der Fluoreszenz-Anregungsspektren.

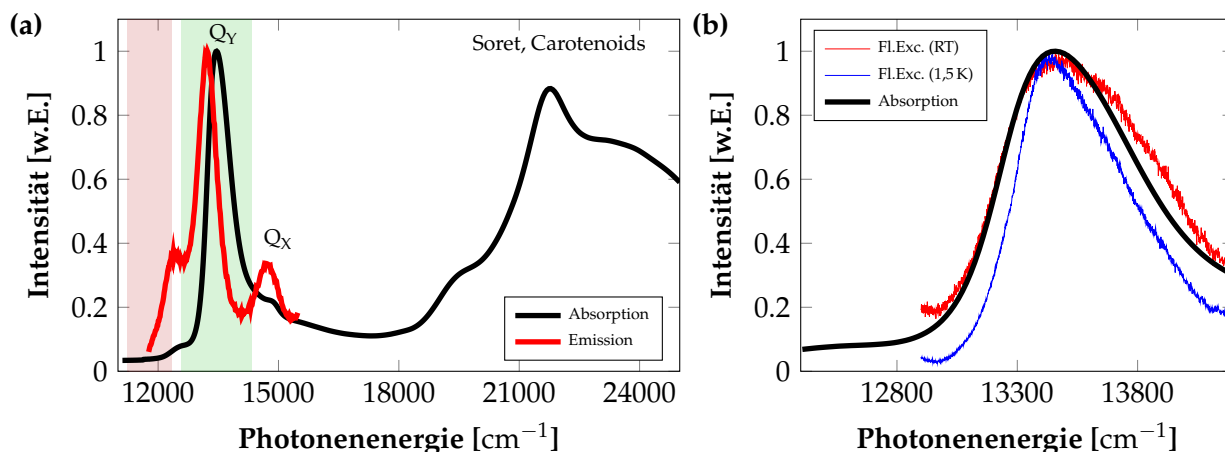


Abbildung 5.2: Ensemblespektren von Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten. (a) raumtemperatur Absorptions- (schwarz) und Emissionsspektren (rot). Die farblich grün und rot hinterlegten Flächen repräsentieren die Anregungs- und Detektionsbereiche der Fluoreszenz-Anregungsexperimente. Weitere Details: siehe Text. (b) Spektraler Bereich der oligomeren Q_Y Übergangsdipolmomente. Raumtemperatur Absorptions- und Fluoreszenz-Anregungsspektrum (schwarz, rot), tieftemperatur Fluoreszenz-Anregungsspektrum (blau).

Das Absorptionsmaximum, welches den BChl *c* Aggregaten zugeordnet werden kann (Q_Y Übergangsdipolmoment) liegt bei einer spektralen Position von 13 459 cm^{-1} und wird begleitet von zwei Schultern bei 12 564 cm^{-1} (Baseplate) und 14 753 cm^{-1} (Q_X Übergangsdipolmoment). Das Fluoreszenz-Emissionsspektrum weist drei Maxima bei 12 421 cm^{-1} ,

13 227 cm⁻¹ und 14 684 cm⁻¹ auf, die ihren Ursprung in der Emission der Baseplate und den BChl *c* Q_Y und Q_X Übergangsdipolmomenten haben. Abbildung 5.2(b) zeigt einen vergrößerten Ausschnitt der Abbildung 5.2(a), der das Absorptions- und Emissionsspektrum im Bereich der Q_Y Übergangsdipolmomente und der Baseplate zeigt. Das Absorptionsspektrum ist in schwarz dargestellt und identisch zu dem in Abbildung 5.2(a). Die Fluoreszenz-Anregungsspektren, die mit dem in Kapitel 4.1 beschriebenen Aufbau bei Raumtemperatur und Tieftemperatur (1,5 K) aufgenommen wurden sind in rot bzw. in blau dargestellt. Im Bereich höherer Energien, bezogen auf das Absorptionsmaximum, weicht das Raumtemperatur Fluoreszenz-Anregungsspektrum vom Absorptionsspektrum ab. Das Tieftemperatur Fluoreszenz-Anregungsspektrum zeigt den gleichen Verlauf des Absorptionsspektrums, weist jedoch eine geringere Linienbreite (FWHM: full width at half maximum) auf. Die verminderte Linienbreite bei tiefen Temperaturen resultiert aus der Reduktion homogener Verbreiterungsmechanismen. Ein weiteres Charakteristikum ist der spektrale Schwerpunkt ν_{SP} , der in Gleichung (5.1) definiert ist.

$$\nu_{SP} = \frac{\sum_{\text{Bande}} I(\nu) \cdot \nu}{\sum_{\text{Bande}} I(\nu)} \quad (5.1)$$

Hierbei repräsentiert I_ν die Intensität als Funktion der Photonenenergie ν . \sum_{Bande} deutet die Summation über die gesamte Bande des jeweiligen Spektrums an.

Die jeweiligen Maxima, spektralen Schwerpunkte und Linienbreiten (FWHM) des Absorptions- und der Fluoreszenz-Anregungsspektren sind 13 459 cm⁻¹, 13 557 cm⁻¹ und 716 cm⁻¹ (schwarz), 13 430 cm⁻¹, 13 542 cm⁻¹ und 805 cm⁻¹ (rot) und 13 447 cm⁻¹, 13 556 cm⁻¹ und 549 cm⁻¹ (blau).

5.1.3 Vergleich der Ensemblespektren der Wildtyp und der *bchR* Mutant Chlorosome

In Abbildung 5.3 sind die Raumtemperatur Ensemble-Absorptionsspektren von Chlorosomen des Wildtyp (schwarz) und des *bchR* Mutanten (rot) des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum* zum Vergleich abgebildet. Die farblich unterlegten Bereiche deuten dabei die spektralen Bereiche der Absorption der Baseplate (rot) und der Q_Y (grün) und Q_X (blau) Übergangsdipolmomente der BChl *c* Aggregate an.

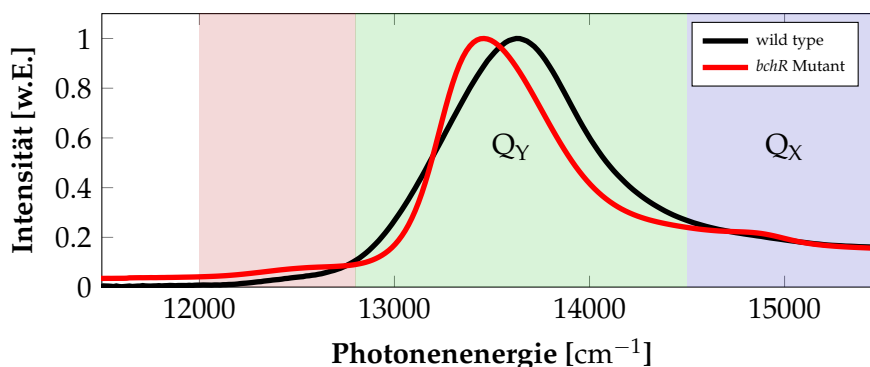


Abbildung 5.3: Absorptionsspektren der Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum* wild type (schwarz) und *bchR* Mutanten (rot). Die farblich hinterlegten Bereiche deuten die unterschiedlichen Absorptionsintervalle der Baseplate bzw. der Q_Y - und Q_X -Banden an (in der Reihenfolge: rot, grün, blau).

Im Gegensatz zu den Bereichen unterhalb von $12\,800\text{ cm}^{-1}$ und überhalb von $14\,500\text{ cm}^{-1}$, in denen beide Spektren einen annähernd gleichen Verlauf aufweisen, unterscheiden sie sich stark im Bereich ihrer Hauptabsorptionsbanden. Die Werte für ihre Absorptionsmaxima, spektralen Schwerpunkte und Linienbreiten sind in Tabelle 5.1 angegeben.

	Maximum [cm ⁻¹]	spektraler Schwerpunkt [cm ⁻¹]	FWHM [cm ⁻¹]
wild type	13 623	13 541	897
<i>bchR</i> Mutant	13 459	13 557	716

Tabelle 5.1: Charakteristika der Absorptionsspektren der Chlorosom-Ensembleproben des *Chlorobaculum tepidum* wild type und *bchR* Mutanten.

Aus diesen Größen ist ersichtlich, dass die Absorptionsbande der Chlorosome des *bchR*

Mutanten um fast 200 cm^{-1} schmaler ist, als die der Wildtyp Chlorosome. Die spektrale Separation der Absorptionsmaxima beträgt ungefähr 150 cm^{-1} . Ihre spektralen Schwerpunkte befinden sich nahezu an gleicher Position. Die Verläufe der Hauptabsorptionsbanden beider Spektren verhalten sich gegensätzlich: Das Absorptionsspektrum der Chlorosome des *bchR* Mutanten steigt relativ steil auf der Seite niedriger Energien (ausgehend vom Absorptionsmaximum) an und fällt auf der Seite hoher Energien im Vergleich dazu relativ flach ab. Im Fall des Absorptionsspektrums der Wildtyp Chlorosome ist ein relativ flacher Anstieg der Flanke bei niedrigen Energien zu beobachten, wohingegen der Abfall der Intensität nach Erreichen des Maximums relativ steil erfolgt.

5.1.4 Diskussion

Unter der Berücksichtigung, dass die Seitengruppe an der C_{12} Position des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten durch eine Methylgruppe festgelegt und damit die Variation an BChl *c* Homologen im Vergleich zum Wildtyp innerhalb der Chlorosome geringer ist (vgl. Kapitel 2.3.5), lässt sich vermuten, dass die BChl *c* Molekülaggregate des Mutanten weniger strukturelle Heterogenität aufweisen als die des Wildtyp. Diese Vermutung wird durch die geringere Linienbreite des Absorptionsspektrums der Chlorosome des *bchR* Mutanten im Vergleich zu dem der Wildtyp Chlorosome untermauert. Basierend auf einem Exziton-Hamiltonian (vgl. Kapitel 3.3) und unter der Berücksichtigung, dass die BChl Moleküle im Inneren der Chlorosome zylindrische J-Aggregate ausbilden, kann an dieser Stelle eine vorsichtige Annahme getroffen werden: die optischen Eigenschaften dieser zylindrischen J-Aggregate unterstehen stark der Aggregatgröße, beispielsweise wird das Absorptionsmaximum eines solchen Aggregates bei zunehmendem Durchmesser oder zunehmender Aggregatlänge rot verschoben [111–113, 117]. Aufgrund dieser Tatsache lässt sich vermuten, dass im Falle des *bchR* Mutanten hauptsächlich Aggregate gleicher Größe und zusätzlich wenige kleinere Aggregate, ausgebildet werden. In diesem Szenario stiege die Flanke bei

niedrigen Energien, bezogen auf das Absorptionsmaximum, steil bis hin zum Absorptionsmaximum an und wäre ausschlaggebend definiert durch die hauptsächlich vorhandenen größeren Aggregate. Auf die Seite höherer Energien nähmen die kleineren Aggregate Einfluss und würden, aufgrund ihrer variierenden Größen und damit verbundenen variierenden Absorptionsmaxima die Flanke höherer Energien über einen größeren spektralen Bereich, im Vergleich zur Flanke niedriger Energien, ausdehnen. Im Falle der Wildtyp Chlorosome könnte die Zusammensetzung der Aggregate genau gegensätzlich sein. Bei dieser Annahme enthält das Chlorosom hauptsächlich kleinere Aggregate, die bei höheren Energien absorbieren und einige, wenige größere Aggregate, welche verantwortlich für die Ausprägung der Schulter des Absorptionsspektrums bei niedrigen Energien (ausgehend vom Absorptionsmaximum) wären.

5.2 Vergleich zwischen Raum- und Tieftemperatur

Fluoreszenz-Anregungsspektren einzelner Wildtyp Chlorosome des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum*

Es wurden polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren von 24 individuellen Chlorosomen bei Raumtemperatur und von 25 individuellen Chlorosomen bei 1,5 K aufgenommen. Die Polarisationsauflösung entsprach 3° bei den Tieftemperatur- und 12° bei den Raumtemperaturexperimenten. Die Proben wurden zwischen $12\,570\text{ cm}^{-1}$ und $14\,000\text{ cm}^{-1}$ angeregt und ihre Fluoreszenz wurde in einem Intervall von $11\,236\text{ cm}^{-1}$ bis $12\,346\text{ cm}^{-1}$ mittels der BP 850/80 Bandpassfilter detektiert (vgl. Abbildung 5.1(a)).

5.2.1 Raumtemperatur Spektren

In Abbildung 5.4(a) sind 70 aufeinanderfolgende Fluoreszenz-Anregungsspektren eines einzelnen Chlorosoms dargestellt. Die vertikale Achse zeigt die Polarisation, die horizontale Achse die Photonenenergie der anregenden Strahlung. Die Fluoreszenzintensität der angeregten Probe ist durch den Farbcode aufgeschlüsselt. Das Durchschnittsspektrum (schwarz), sowie zwei weitere Spektren unter verschiedener Polarisation (hellblau, hellrot) sind in Abbildung 5.4(b) dargestellt. Die in hellblau und hellrot abgebildeten Spektren entsprechen denen, die in Abbildung 5.4(a) durch die horizontalen Balken markiert sind. Aufgrund des Rauschens der Spektren, wurde ein gleitender Durchschnitt (11 Punkte) hinzugefügt (grau, dunkelblau, dunkelrot) um ihre Verläufe zu verdeutlichen.

Das Durchschnittsspektrum weist eine breite Bande mit einem Maximum bei $13\,691\text{ cm}^{-1}$ und einer Linienbreite (FWHM) von 695 cm^{-1} auf. Die Verteilungen der Maxima, spektralen Schwerpunkte und Linienbreiten aller bei Raumtemperatur aufgenommenen Spektren sind in Abbildung 5.5 dargestellt. Ihre Mittelwerte und Standardabweichungen in oben genannter Reihenfolge sind $(13\,649 \pm 31)\text{ cm}^{-1}$ (Maximum), $(13\,490 \pm 51)\text{ cm}^{-1}$ (spektraler

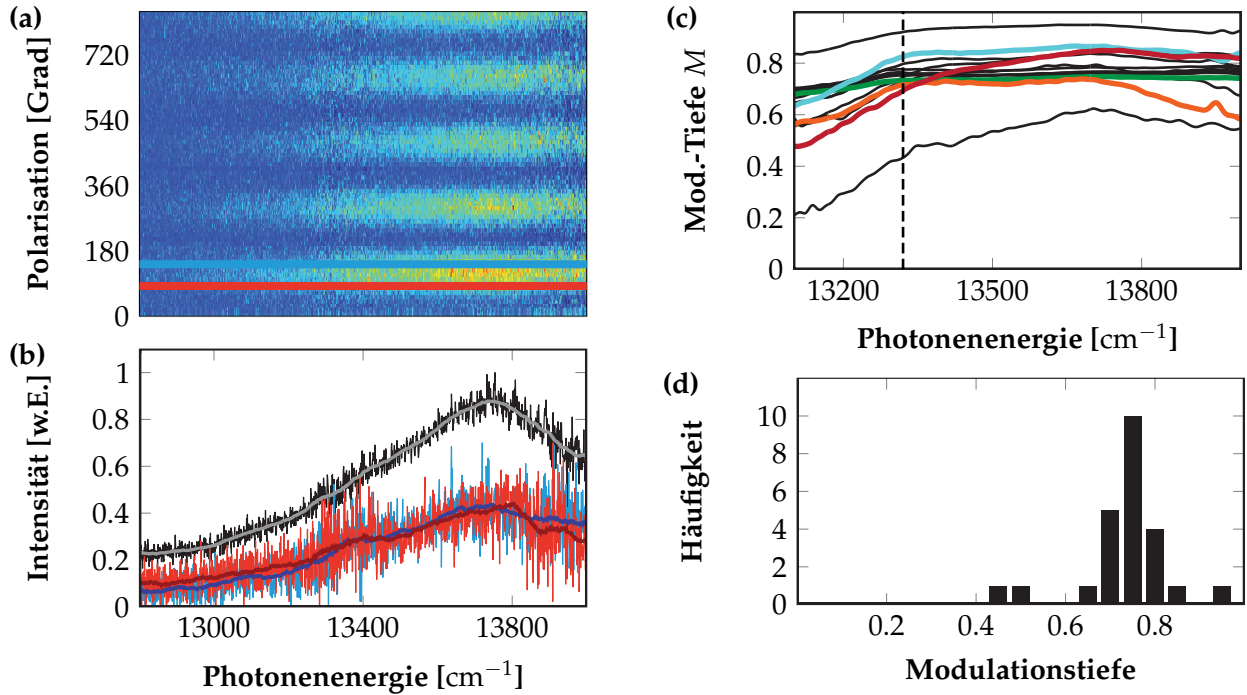


Abbildung 5.4: (a) Stapelung von 70 Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome als Funktion der Polarisation der Anregungsstrahlung in einer zweidimensionalen Repräsentation. Zwischen zwei sukzessiv aufgenommenen Fluoreszenz-Anregungsspektren wurde die Polarisation um 12° gedreht. Die Intensität ist farbcodiert. (b) Durchschnittsspektrum (schwarz) der 70 einzelnen Fluoreszenz-Anregungsspektren und zwei individuelle Fluoreszenz-Anregungsspektren bestimmter Polarisationen der Anregungsstrahlung: 84° (rot), 144° (blau). Die zugehörigen individuellen Spektren sind durch die horizontalen Linien in (a) angedeutet. Zur besseren Sichtbarkeit, wurden die jeweiligen Linien, welche die Spektren überlagern mit einem gleitenden Durchschnitt von 11 Datenpunkten versehen. (c) Anregungsenergieabhängige Modulationstiefe $M(\nu)$. Zur besseren Übersichtlichkeit sind vier Beispiele farblich hervorgehoben und die Auswahl wurde auf 10 Chlorosome restriktiert. Die vertikale, gestrichelte Linie gibt eine Photonenenergie von $13\,320\text{ cm}^{-1}$ an. (d) Verteilung der über alle Anregungsenergien ($> 13\,320\text{ cm}^{-1}$) gemittelten Modulationstiefen von 24 individuellen Chlorosomen. Aus [153].

Schwerpunkt) und $(835 \pm 129)\text{ cm}^{-1}$ (FWHM).

Die Spektren der 24 einzelnen Chlorosome unter verschiedenen Polarisationen unterscheiden sich bezüglich ihres Verlaufs nicht nennenswert voneinander. Es wurde die Modulationstiefe $M(\nu) = \frac{I_{\max}(\nu) - I_{\min}(\nu)}{I_{\max}(\nu) + I_{\min}(\nu)}$ als Funktion der Anregungsenergie ν bestimmt, wobei $I_{\min}(\nu)$ und $I_{\max}(\nu)$ die minimale bzw. die maximale Intensität der Fluoreszenzintensität

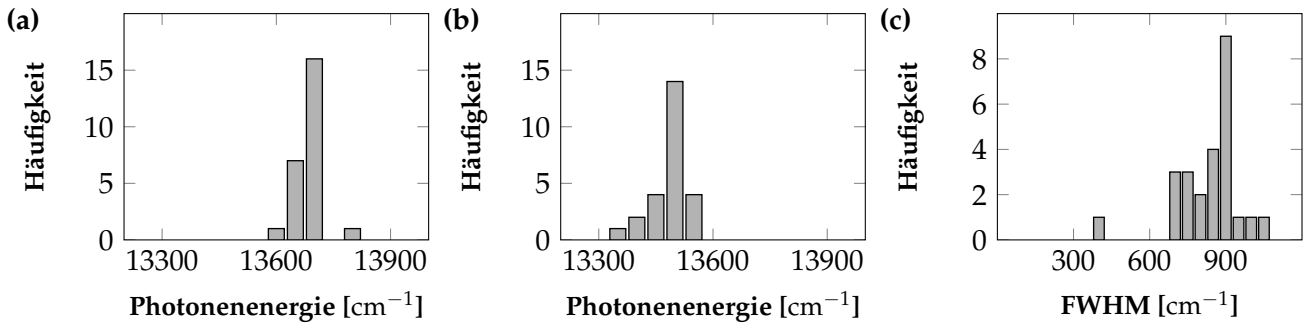


Abbildung 5.5: Verteilungen der bei Raumtemperatur untersuchten Chlorosomen. (a) Maxima der Durchschnittsspektren. (b) Spektrale Schwerpunkte. (c) Linienbreite (FWHM).

bezeichnen. Die Modulationstiefe 10 individueller Chlorosome sind in Abbildung 5.4(c) dargestellt, wobei vier von ihnen farblich markiert sind. Es ist ersichtlich, dass die Modulationstiefe oberhalb einer Photonenergie von 13 320 cm⁻¹ (angedeutet durch die vertikale, gestrichelte Linie) annähernd konstant ist. Oberhalb dieser Grenze wurde für die Modulationstiefe $M(\nu)$ ein Mittelwert über die Anregungsenergie ν für jeden individuellen Komplex bestimmt. Die Verteilung dieser Mittelwerte ist in Abbildung 5.4(d) gezeigt und ist mit einer Standardabweichung von 0,08 um einen Wert von 0,75 verteilt. Dieser Mittelwert stimmt gut mit dem aus Referenz [121] überein, der zu 0,77 bestimmt und bei einer stationären Anregungswellenlänge von 750 nm (13 333 cm⁻¹) erhalten wurde.

5.2.2 Tieftemperatur Spektren

Es wurden polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren von 25 individuellen Chlorosomen bei tiefen Temperaturen (1,5 K) aufgenommen. Die Spektren der 25 Komplexe konnten in zwei Klassen aufgeteilt werden: (i) Fluoreszenz-Anregungsspektren, die in zwei Anteile separiert werden können und (ii) Fluoreszenz-Anregungsspektren, die nicht in verschiedene Anteile separiert werden können. Acht der 25 aufgenommenen Spektren fallen dabei in die erste Kategorie und ein Beispielspektrum ist in Abbildung 5.6(a,b) gezeigt. Die Spektren der 17 verbleibenden Chlorosome fallen in die zweite Kategorie. Ein

Beispielspektrum ist in Abbildung 5.6(c,d) dargestellt. Für die polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren beider Beispiele (Abbildung 5.6(a,c)) wurden 250 aufeinanderfolgende Spektren, zwischen denen die Polarisation der anregenden Strahlung fortlaufend in Stufen von 3° gedreht wurde, aufgenommen. Die Durchschnittsspektren sind jeweils in schwarz in den Abbildungen 5.6(b) und (d) dargestellt. Beide Spektren zeigen breite, asymmetrische Banden, deren Maxima an spektralen Positionen von $13\,632\text{ cm}^{-1}$ bzw. $13\,681\text{ cm}^{-1}$ liegen und Linienbreiten (FWHM) von 548 cm^{-1} bzw. 603 cm^{-1} aufweisen. Die Verteilungen der Maxima, der spektralen Schwerpunkte und der Linienbreiten (FWHM) sind in Abbildung 5.7 dargestellt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen sind $(13\,549 \pm 114)\text{ cm}^{-1}$ (Maximum), $(13\,414 \pm 65)\text{ cm}^{-1}$ (spektraler Schwerpunkt) und $(793 \pm 106)\text{ cm}^{-1}$ (FWHM).

Die Abbildungen 5.6(a) und (c) zeigen eine starke Abhängigkeit der Fluoreszenz von der Polarisation der einfallenden Anregungsstrahlung. Zwei Spektren verschiedener Polarisation, markiert durch die horizontalen Linien (hellblau, hellrot) sind für beide Beispiele in Abbildung 5.6(b) bzw. Abbildung 5.6(d) dargestellt.

Die beiden individuellen Spektren (hellblau, hellrot) des ersten Beispiels (Abbildung 5.6(a,b)) weisen Maxima an spektralen Positionen von $13\,351\text{ cm}^{-1}$ (hellrot) bzw. $13\,666\text{ cm}^{-1}$ (hellblau) und Linienbreiten (FWHM) von 683 cm^{-1} bzw. 462 cm^{-1} auf. Es ist deutlich erkennbar, dass beide Spektren in unterschiedlicher Art zum Durchschnittsspektrum (schwarz) beitragen.

Im Gegensatz zu den individuellen Spektren des ersten Beispiels, zeigen die des zweiten Beispiels (Abbildung 5.6(c,d)) gleiche Verläufe und weisen ihre Maxima bei $13\,676\text{ cm}^{-1}$ (hellrot) bzw. $13\,693\text{ cm}^{-1}$ (hellblau), mit zugehörigen Linienbreiten (FWHM) von 570 cm^{-1} bzw. 667 cm^{-1} , auf.

Für das Beispielspektrum der ersten Kategorie ist in Abbildung 5.8(a) die Fluoreszenz als Funktion der Polarisation (Punkte) der in Abbildung 5.6(b) durch Pfeile gekennzeichneten

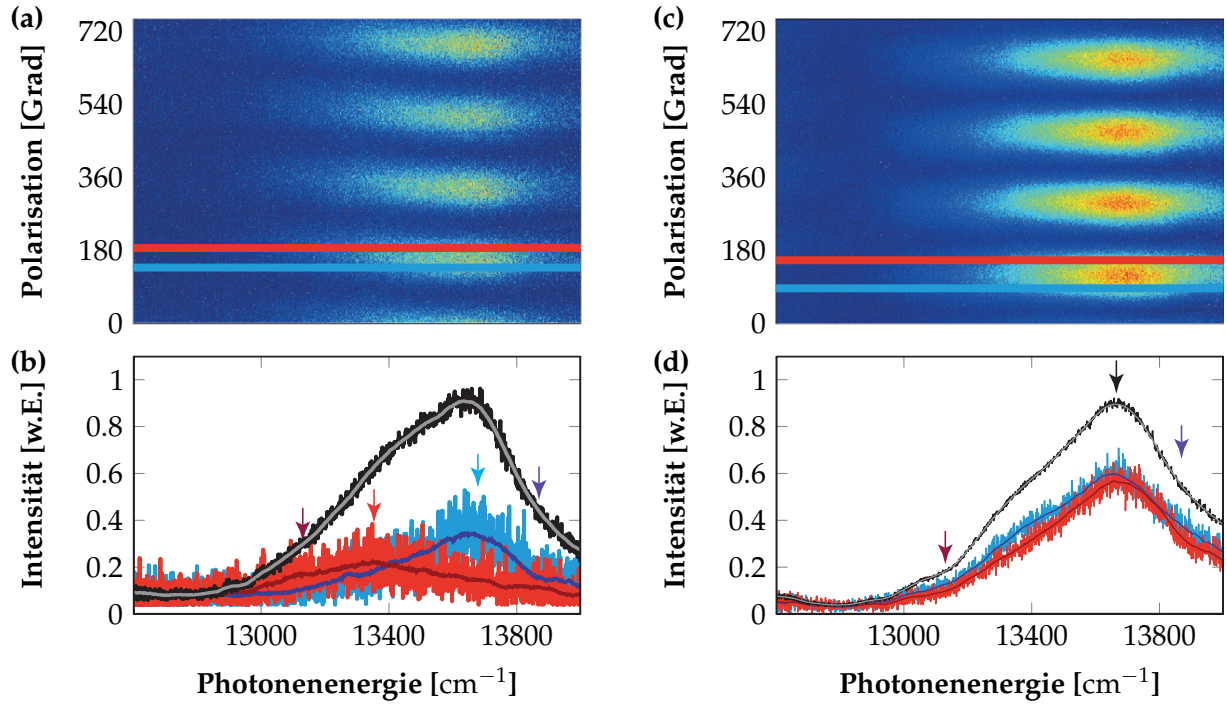


Abbildung 5.6: (a,c) Stapelung von 250 Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome als Funktion der Polarisation der Anregungsstrahlung in einer zweidimensionalen Repräsentation. Zwischen zwei sukzessiv aufgenommenen Fluoreszenz-Anregungsspektren wurde die Polarisation um 3° gedreht. Die Intensität ist farbcodiert. (b,d) Durchschnittsspektrum (schwarz) der 250 einzelnen Fluoreszenz-Anregungsspektren und zwei individuelle Fluoreszenz-Anregungsspektren bestimmter Polarisationen der Anregungsstrahlung: (b) 138° (blau), 186° (rot); (d) 87° (blau), and 156° (rot). Die zugehörigen individuellen Spektren sind durch die horizontalen Linien in (a) und (c) angedeutet. Zur besseren Sichtbarkeit, wurden die jeweiligen Linien, welche die Spektren überlagern mit einem gleitenden Durchschnitt von 11 Datenpunkten versehen. Aus [153].

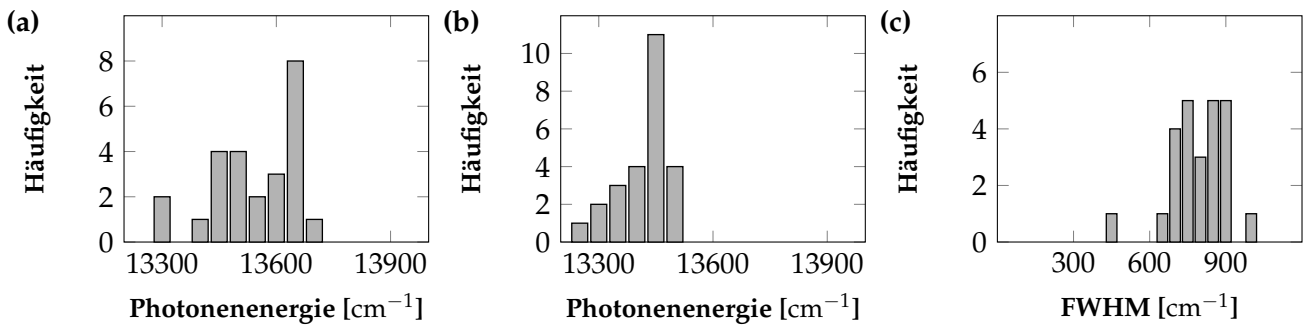


Abbildung 5.7: Verteilungen der bei Tieftemperatur untersuchten Chlorosomen. (a) Maxima der Durchschnittsspektren. (b) Spektrale Schwerpunkte. (c) Linienbreite (FWHM).

spektralen Positionen dargestellt. Zwei der vier Positionen gehören zu den Maxima der individuellen Spektren, die anderen beiden repräsentieren Positionen in den Flanken des Durchschnittsspektrums, an denen die Überlagerung der individuellen Spektren vermeintlich minimal wird. Für jede der vier Positionen wurde die Fluoreszenz (Punkte) mit einer \cos^2 – Funktion (schwarze Linie) angepasst. Die relativen Phasenwinkel der Fluoreszenzmodulation an den spektralen Positionen $13\,351\text{ cm}^{-1}$, $13\,666\text{ cm}^{-1}$ und $13\,840\text{ cm}^{-1}$ bezogen auf diejenige bei $13\,120\text{ cm}^{-1}$ sind $5,7^\circ$, $29,7^\circ$ und $30,6^\circ$. Auf die gleiche Weise wurde mit dem Beispielspektrum der Kategorie zwei verfahren (Abbildung 5.8(b)). Die polarisationsabhängige Fluoreszenz wurde an drei spektralen Positionen (vgl. Abbildung 5.6(d)) mit einer \cos^2 – Funktion (schwarze Linie) angepasst. In diesem Fall war keine Phasendifferenz zwischen den \cos^2 – Funktion beobachtbar.

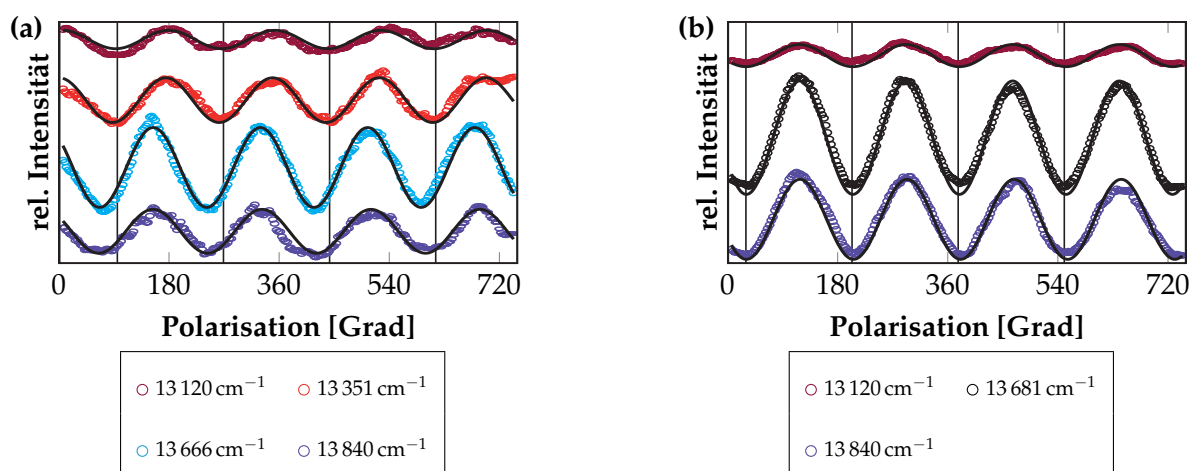


Abbildung 5.8: Intensität der Fluoreszenz (Punkte) als Funktion der Polarisation der Anregungsstrahlung an spektralen Positionen, die durch Pfeile in Abbildung 5.6(b,d) markiert sind. Eine \cos^2 -Funktion wurde an jeden Datensatz angefitet (durchgehende schwarze Linien). (a) Intensitätsmodulation der Markierungen der Abbildung 5.6(b); (b) Intensitätsmodulation der Markierungen der Abbildung 5.6(d). Die vertikalen schwarzen Linien deuten die Minima der Intensitätsmodulation bei einer spektralen Position von $13\,120\text{ cm}^{-1}$ an. Aus [153].

Für jedes der Chlorosome wurde die Modulationstiefe als Funktion der Anregungsstrahlung bestimmt $M(\nu)$. Diese ist separat für die Chlorosome verschiedener Kategorien in

Abbildung 5.9 gezeigt. Die Modulationstiefen der bei tiefen Temperaturen aufgenommenen Spektren variiert gravierend über den spektralen Bereich der Bande und unterscheiden sich demnach substantiell von den Modulationstiefen, die bei Raumtemperatur aufgenommen wurden (vgl. Abbildung 5.4(c)). Ein Mittelwert und eine Standardabweichung von $M = 0,47 \pm 0,12$ wurde durch Mittelung über alle Komplexe und über Anregungsenergien von $13\,100\text{ cm}^{-1}$ bis $14\,000\text{ cm}^{-1}$ gefunden.

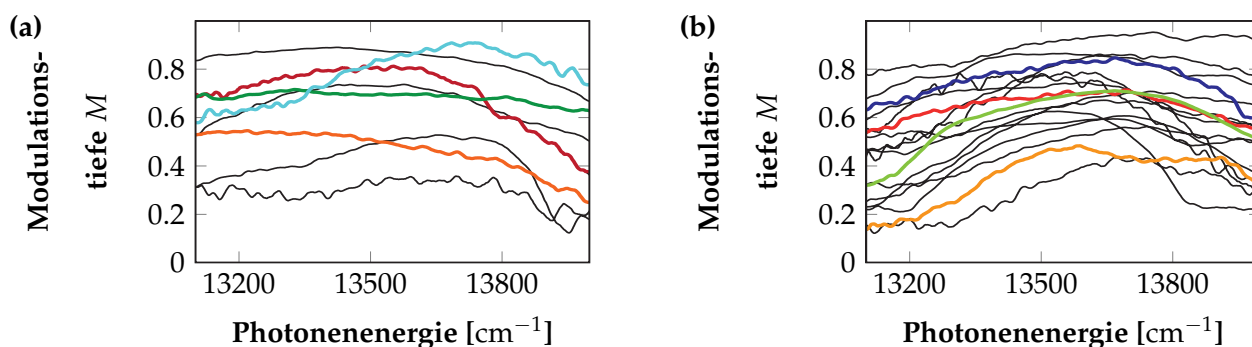


Abbildung 5.9: Anregungsenergieabhängige Modulationstiefe $M(\nu)$ (a) individueller Chlorosome die polarisationsaufgelöste spektrale Komponenten aufweisen (Chlorosome 1-8) und (b) individueller Chlorosome die keine polarisationsaufgelösten spektralen Komponenten aufweisen (Chlorosome 9-25). Aus [153].

5.2.3 Vergleich und Diskussion der Raum- und Tieftemperaturergebnisse

Abbildung 5.10 zeigt die Histogramme der Maxima, spektralen Schwerpunkte und Linienbreiten (FWHM) der bei Raumtemperatur (a-c) und Tieftemperatur (d-f) aufgenommenen Spektren. Die Mittelwerte und Standardabweichungen dieser Größen sind (Maximum, spektraler Schwerpunkt, Linienbreite) $(13\,649 \pm 31)\text{ cm}^{-1}$, $(13\,490 \pm 51)\text{ cm}^{-1}$ und $(835 \pm 129)\text{ cm}^{-1}$ im Falle der Raumtemperaturexperimente und $(13\,549 \pm 114)\text{ cm}^{-1}$, $(13\,414 \pm 65)\text{ cm}^{-1}$ und $(793 \pm 106)\text{ cm}^{-1}$ im Falle der Tieftemperaturexperimente.

Die Mittelwerte der Tieftemperaturexperimente sind, verglichen mit den Mittelwerten der Raumtemperaturexperimente, in allen drei Fällen geringer. Die Differenz der Maxima liegt

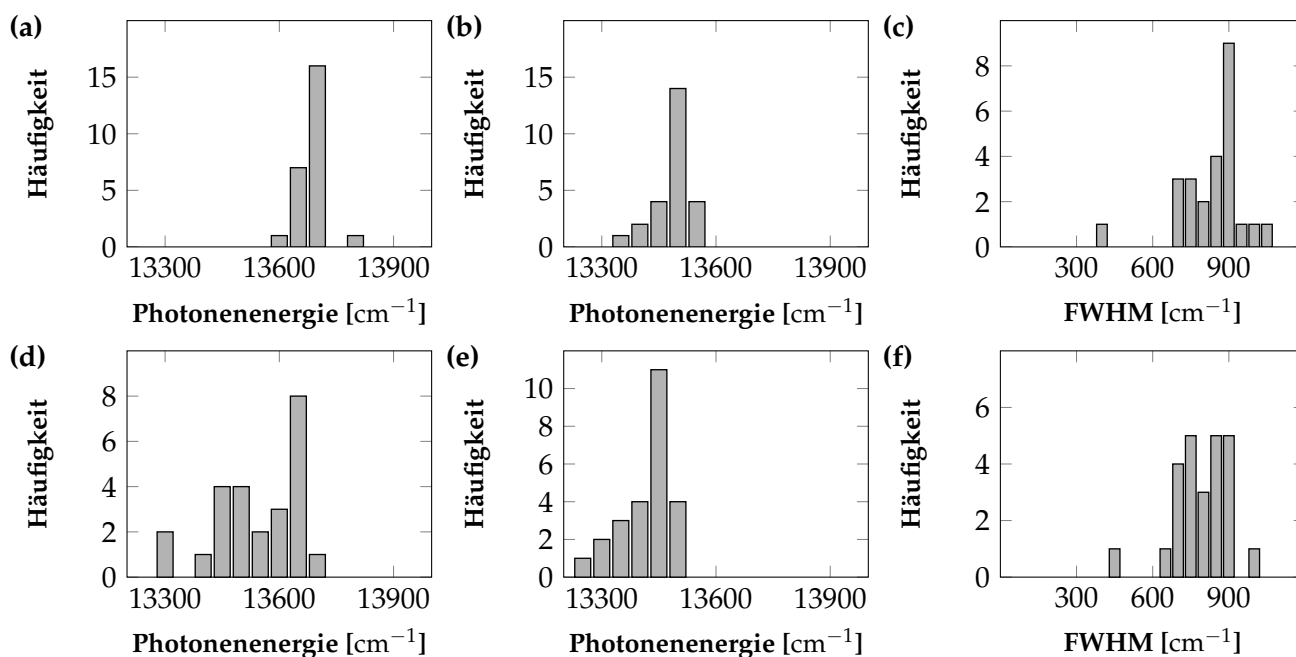


Abbildung 5.10: Verteilungen der bei Raumtemperatur (a-c) und Tieftemperatur (d-f) untersuchten Chlorosomen der Abbildungen 5.5 und 5.7. (a,d) Maxima der Durchschnittsspektren. (b,e) Spektrale Schwerpunkte. (c,f) Linienbreite (FWHM).

bei 100 cm^{-1} und stimmt mit den Resultaten der Ensemblemessungen überein (80 cm^{-1}). Die Tieftemperatur Spektren zeigen, verglichen mit den Raumtemperaturspektren, sowohl eine größere Variation der spektralen Positionen ihrer Maxima als auch eine größere Vielfalt ihrer Profile. Aus diesem Grund ist der spektrale Schwerpunkt eine weitere Größe um einen Vergleich zwischen den Raum- und Tieftemperaturspektren heranzuziehen. Der Mittelwert des Spektralen Schwerpunkts der Tieftemperaturspektren ist gegenüber den Raumtemperaturspektren um 76 cm^{-1} zu niedrigeren Energien verschoben. Normalerweise ist die Linienbreite (FWHM) aufgrund der Reduktion homogener Verbreiterungsmechanismen bei tiefen Temperaturen auf dem Einzelmoleküllevel beträchtlich schmäler als bei Raumtemperatur. Der Mittelwert der Linienbreiten ist bei tiefen Temperaturen um 40 cm^{-1} schmäler als bei Raumtemperatur. In Anbetracht der Standardabweichungen von 129 cm^{-1} und 106 cm^{-1} scheint dieser Unterschied jedoch insignifikant zu sein. Ein möglicher Grund dafür ist die Größe

Menge an BChl Molekülen innerhalb eines Chlorosoms, die eine Vielfalt an verschiedenen Aggregaten bzw. ähnliche Aggregate unterschiedlicher Abmessungen ausbilden. Dadurch ist ebenfalls, sowohl bei Raum- als auch bei Tieftemperatur, ein beachtliches Maß an struktureller Unordnung vorhanden.

Die Spannen der Modulationstiefen über die Absorptionsbanden (Raumtemperatur: von $13\,320\text{ cm}^{-1}$ bis $14\,000\text{ cm}^{-1}$; Tieftemperatur: von $13\,100\text{ cm}^{-1}$ bis $14\,000\text{ cm}^{-1}$) einzelner Chlorosome sind in Abbildung 5.11(a) für die Raumtemperaturexperimente und in Abbildung 5.11(b) für die Tieftemperaturexperimente dargestellt. Die Spanne der Modulationstiefe, der bei tiefen Temperaturen aufgenommenen Spektren zeigt eine hohe Heterogenität sowohl innerhalb eines einzelnen Chlorosoms, als auch zwischen verschiedenen Chlorosomen. Der geringste Wert tritt bei Komplex 6 an einer spektralen Position von $13\,951\text{ cm}^{-1}$ mit einem Wert von $M = 0,1$ auf. Der höchste Wert wurde für Komplex 22 gefunden: $M = 0,96$ bei $13\,706\text{ cm}^{-1}$. Die Spanne der Modulationstiefe der Raumtemperaturspektren ist wesentlich homogener als die der Tieftemperaturexperimente. Dies gilt sowohl für das Inter- als auch für das Intrachlorosomlevel. Generell sind Mittelwerte der energieabhängigen Modulationstiefe $M(\nu)$ im Falle der Raumtemperaturspektren höher als bei den Tieftemperaturexperimenten. Der niedrigste Wert, $M = 0,4$, ist den Komplexen 5 und 17 zuzuordnen. Die Mittelwerte der Spanne der Modulationstiefe liegt bei $0,75$ für die Raumtemperaturexperimente und bei $0,47$ für die Tieftemperaturexperimente.

Eine weitere Größe zur Auswertung der Fluoreszenzmodulation ist ein über die minimale und maximale Intensität (I_{\min} , I_{\max}) definierter Winkel $\gamma = \arctan\left(\sqrt{\frac{I_{\min}}{I_{\max}}}\right)$. Werte von $\gamma = 0^\circ$ bzw. $\gamma = 45^\circ$ repräsentieren den homogenen Fall, bei dem alle Übergangsdipolmomente einer bestimmten spektralen Position parallel orientiert sind und den isotropen Fall. Eine Umrechnung der Modulationstiefe M in den Winkel γ führt zu Mittelwerten von $\gamma = 20,7^\circ$ (Raumtemperatur) und $\gamma = 31,0^\circ$ (Tieftemperatur). In Referenz [121] wird von einem Wert von $\gamma = 27,9^\circ$ berichtet. Berücksichtigt man die Tatsache, dass die Bakterien, von

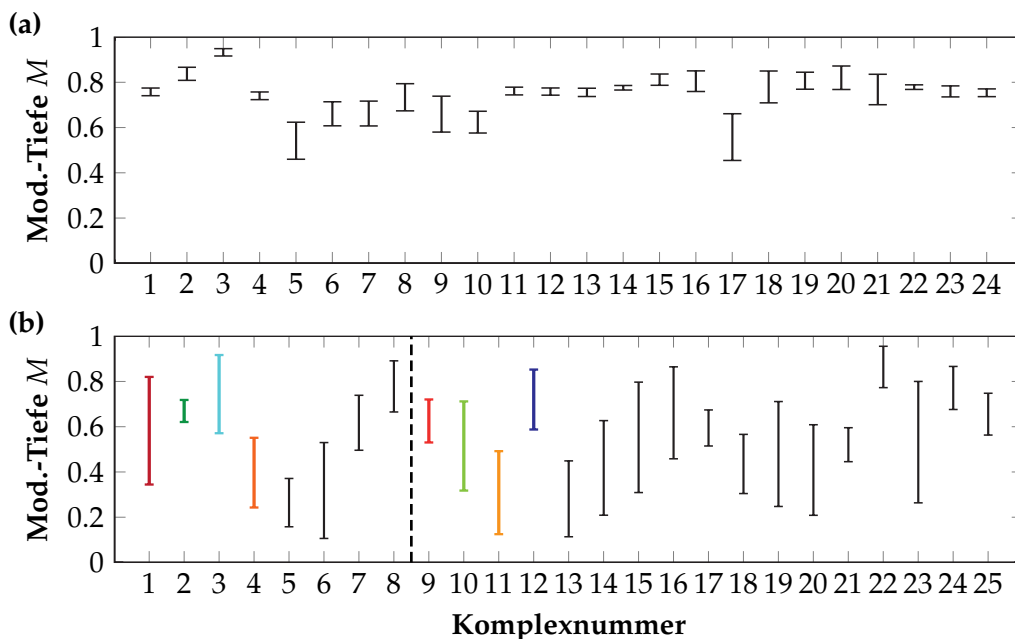


Abbildung 5.11: (a) Variation der Modulationstiefe M 24 individueller Chlorosome die bei Raumtemperatur untersucht wurden. Die Balken repräsentieren die Minima bzw. Maxima von M jedes einzelnen Chlorosoms über einer Photonenenergie von $13\,320\text{ cm}^{-1}$. (b) Variation der Modulationstiefe M aller bei $1,5\text{ K}$ untersuchten individuellen Chlorosome eines spektralen Bereichs von $13\,100\text{ cm}^{-1}$ bis $14\,000\text{ cm}^{-1}$. Aus [153].

denen einzelne Chlorosome gewonnen wurden, in verschiedenen Laboratorien und vermutlich unter (leicht) verschiedenen Bedingungen gezüchtet wurden [121, 122, 153], stimmen die Werte relativ gut überein. Weitere Einflüsse auf die Güte der Probe nehmen wahrscheinlich auch die Extraktion der Chlorosome aus den Bakterien, sowie die Lagerung. Sogar Chlorosome der gleichen Spezies, die aus unterschiedlichen Serien des gleichen Labors stammen zeigen Unterschiede in ihren CD-Spektren [93, 155].

Nachdem für die Mittelwerte $M \neq 1$ und $\gamma \neq 0$ gilt, sind unter den breiten Banden der Spektren mindestens zwei spektral überlappende Übergänge, ungleicher Polarisierung verborgen. Die Variationen der Modulationstiefe $M(\nu)$ bedeuten, dass verschiedene Übergangsdipolmomente unterschiedlich stark zu einem resultierenden Übergangsdipolmoment an einer bestimmten spektralen Position beitragen. Das Innere eines Chlorosoms enthält 10 bis 30

zylindrische BChl-Aggregate [156] mit bestimmten Orientierungen, die durch die Aggregatlänge und das Chlorosomvolumen vorgegeben sind. Es wird angenommen, dass die zylindrischen BChl-Aggregate bei geringem Chlorosomvolumen oder langen Aggregaten weitestgehend parallel zueinander und der Hauptachse des Chlorosoms orientiert sind. Diese Anordnung würde zu einer hohen Modulationstiefe führen. Im anderen Fall, d.h. kurze Aggregate oder großes Chlorosomvolumen, wird die Orientierung der BChl-Aggregate in einem geringeren Maß durch die Begrenzungen des Chlorosoms beeinflusst und würde zu geringeren Modulationstiefen führen. Die Modulationstiefe ist sowohl ein Maß für die strukturelle als auch für die energetische Unordnung. Ihr Unterschied bezüglich der Chlorosome die bei Raum- bzw. Tieftemperatur vermessen wurden, lässt sich dadurch erklären, dass BChl-Aggregate eines Chlorosoms durch tiefe Temperaturen in einer bestimmten Konformation vorliegen und somit auch die Energielandschaft der elektronisch angeregten Zustände unverändert bleibt. Bei höheren Temperaturen werden mehr Zustände thermisch zugänglich und zusätzlich werden strukturelle Fluktuationen schneller, was bedeutet, dass sich die Konformation der BChl-Aggregate zeitlich ändert. Die Spektren, die bei Raumtemperatur aufgenommen wurden sind somit ein Durchschnitt über eine Variation an Konformationen eines einzelnen Chlorosoms, was die Schlussfolgerung nahe legt, dass eine homogenere Verteilung der Orientierungen der Übergangsdipolmomente vorliegt.

5.3 Globale Analyse der polarisationsaufgelösten

Tieftemperatur-Fluoreszenz-Anregungsspektren von Wildtyp

***Chlorobaculum tepidum* Chlorosomen**

Die Tieftemperaturdaten des vorangegangenen Abschnitts wurden erweitert und es wurde eine Methode zur globalen Analyse der polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren etabliert.

5.3.1 Polarisationsaufgelöste Tieftemperatur-Fluoreszenz-Anregungsspektren

Es wurden polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren von 102 individuellen Chlorosomen des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum* bei 1,5 K aufgenommen. Für jedes dieser polarisationsaufgelöste Spektren wurden 250 aufeinanderfolgende Spektren aufgenommen, zwischen deren Aufnahmen die Polarisation der anregenden Strahlung stufenweise um jeweils 3° gedreht wurde. Drei Beispielspektren sind in Abbildung 5.12(a,c,e) dargestellt.

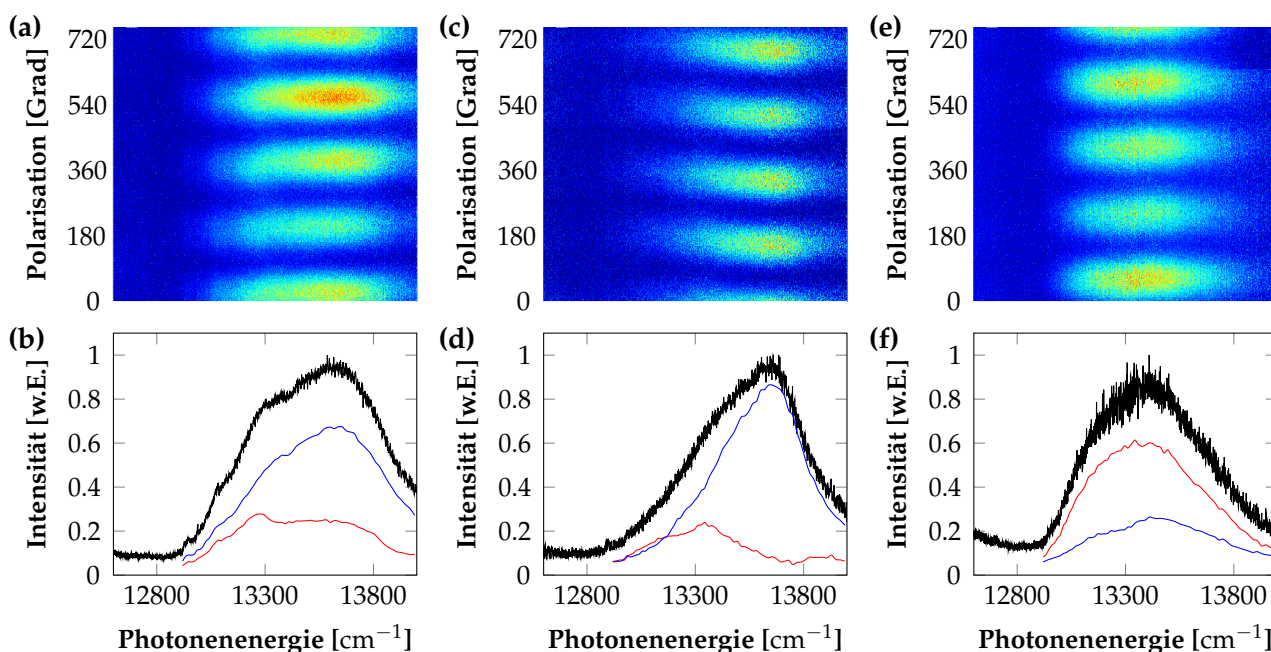


Abbildung 5.12: (a,c,e) Stapelung von 250 Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome als Funktion der Polarisation der Anregungsstrahlung in einer zweidimensionalen Repräsentation. Zwischen zwei sukzessiv aufgenommenen Fluoreszenz-Anregungsspektren wurde die Polarisation um 3° gedreht. Die Intensität ist farbcodiert. (b,d,f) Durchschnittsspektrum der 250 individuellen Fluoreszenz-Anregungsspektren (schwarz) und die PAS der globalen Analyse (rot, blau). Die PAS sind auf der gleichen relativen Skala gezeigt, die für das Durchschnittsspektrum normiert wurde.

Die vertikalen und horizontalen Achsen entsprechen der Polarisation bzw. der Photonenenergie der einfallenden Strahlung. Die Intensität der Fluoreszenz ist dabei farbcodiert. Die Durchschnittsspektren sind in den Abbildungen 5.12(b,d,f) jeweils in schwarz dargestellt.

Es ist klar ersichtlich, dass zwischen der Fluoreszenzintensität und der Polarisation der anregenden Strahlung eine Abhängigkeit besteht. Die Durchschnittsspektren weisen breite, asymmetrische Banden auf, deren Maxima, spektrale Schwerpunkte und Linienbreiten (FWHM) bei (b) $13\,614\text{ cm}^{-1}$, $13\,449\text{ cm}^{-1}$, 772 cm^{-1} , (d) $13\,628\text{ cm}^{-1}$, $13\,445\text{ cm}^{-1}$, 563 cm^{-1} und (f) $13\,369\text{ cm}^{-1}$, $13\,377\text{ cm}^{-1}$, 642 cm^{-1} liegen. Die Verteilungen dieser Größen über alle 102 Chlorosome sind in Abbildung 5.13 dargestellt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen sind $(13\,545 \pm 124)\text{ cm}^{-1}$ (Maxima), $(13\,486 \pm 59)\text{ cm}^{-1}$ (spektrale Schwerpunkte) und $(765 \pm 141)\text{ cm}^{-1}$ (Linienbreiten).

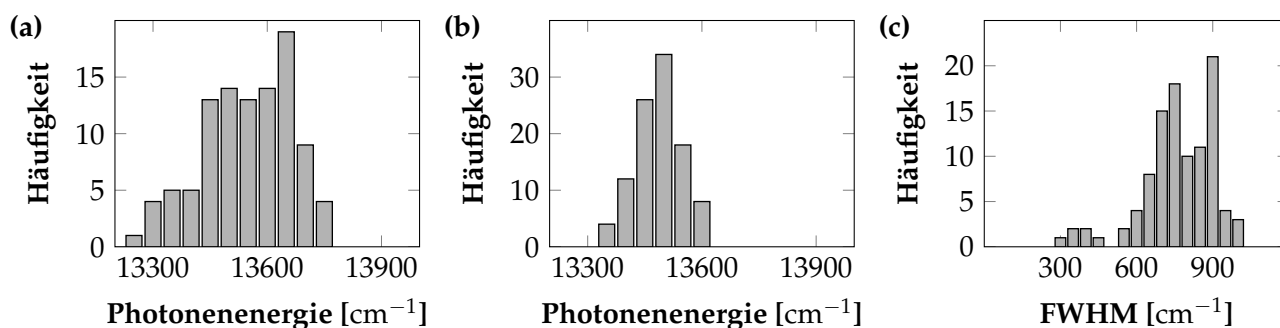


Abbildung 5.13: Verteilung der Ergebnisse der bei 1,5 K aufgenommenen polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren von 102 individuellen Chlorosomen. (a) Maxima der Durchschnittsspektren. (b) Spektrale Schwerpunkte. (c) Linienbreite (FWHM).

5.3.2 Ergebnisse der globalen Analyse

In Analogie zu zerfalls-assoziierten Spektren (DAS: decay associated spectra), die aus zeitaufgelöster Spektroskopie erhalten werden [157–160] wurde eine ähnliche Methode entwickelt, um die polarisationsabhängige Intensitätsmodulation detaillierter zu untersuchen. Dazu wurden die polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren in 63 Energieintervalle von ungefähr 25 cm^{-1} eingeteilt und anschließend mit der in Gleichung (5.2) angegebenen Funktion gefittet.

$$A(\nu, \phi, \delta) = A_0 + A^\phi(\nu) \cos^2(\phi) + A^{\phi+\delta}(\nu) \cos^2(\phi + \delta) \quad (5.2)$$

ν repräsentiert die jeweils zentrale Anregungsenergie der eingeteilten Intervalle, ϕ und δ die globale Phase und die Phasendifferenz der \cos^2 -Funktionen. $A^\phi(\nu)$ und $A^{\phi+\delta}(\nu)$ sind die Amplituden, die mit den Phasenwinkeln zusammenhängen. A_0 ist ein konstantes Offset. ϕ und δ sind die globalen Parameter, die unabhängig von der spektralen Position optimiert werden, wohingegen $A^\phi(\nu)$ und $A^{\phi+\delta}(\nu)$ lokale Parameter sind, die in Abhängigkeit der spektralen Positionen optimiert werden. Das heißt, dass für jedes Intervall des eingeteilten Spektrums zwei Amplituden, die zu unterschiedlichen Phasen gehören, erhalten werden. Im Folgenden werden $A^\phi(\nu)$ und $A^{\phi+\delta}(\nu)$ als polarisations-assoziierte Spektren (PAS) bezeichnet. Für die drei Beispielspektren der Abbildung 5.12 ergeben sich für den Phasenwinkel ϕ und die Phasendifferenz δ Werte von (a) 38° und 78° , (c) 122° und 78° , (e) 47° und 85° . Die zugehörigen (PAS) sind in den Abbildungen 5.12(b,d,f) in rot und blau dargestellt. Das in rot dargestellte Spektrum besitzt dabei, im Vergleich zu dem in blau dargestellten Spektrum den niedrigeren spektralen Schwerpunkt. Diese werden deshalb als niederenergetisches und hochenergetisches PAS bezeichnet. Für die niederenergetischen PAS ergeben sich spektrale Schwerpunkte und Linienbreiten (FWHM) von (b) $13\,438\text{ cm}^{-1}$, 790 cm^{-1} , (d) $13\,364\text{ cm}^{-1}$, 485 cm^{-1} und (f) $13\,462\text{ cm}^{-1}$, 620 cm^{-1} , für die hochenergetischen PAS (b) $13\,505\text{ cm}^{-1}$, 698 cm^{-1} , (d) $14\,545\text{ cm}^{-1}$, 496 cm^{-1} und (f) $13\,426\text{ cm}^{-1}$, 687 cm^{-1} .

Die globale Analyse wurde auf die polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren von 102 einzelnen Chlorosomen angewendet. Die Verteilungen der spektralen Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums (schwarz) und beider PAS (rot und blau), sowie die energetische Differenz der spektralen Schwerpunkte beider PAS und der Phasenwinkel δ sind in Abbildung 5.14 dargestellt.

Die Mittelwerte und Standardabweichungen der erhaltenen Größen sind $(13\,486 \pm 59)\text{ cm}^{-1}$ (grau), $(13\,452 \pm 81)\text{ cm}^{-1}$ (rot) und $(13\,517 \pm 72)\text{ cm}^{-1}$ (blau) (spektrale Schwerpunkte, Ab-

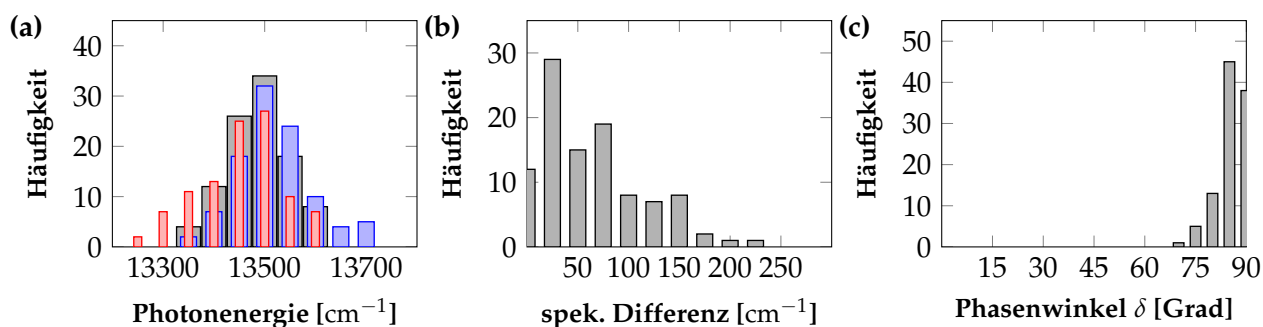


Abbildung 5.14: Verteilungen der Ergebnisse aus der globalen Analyse der bei tiefen Temperaturen aufgenommenen polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum* wild type. (a) Spektrale Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums (schwarz) und der nieder- und hochenergetischen PAS (rot, blau). (b) Spektrale Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS. (c) Phasenwinkel δ zwischen den nieder- und hochenergetischen PAS.

bildung 5.14(a)), $(64 \pm 50) \text{ cm}^{-1}$ (spektrale Differenz der PAS, Abbildung 5.14(b)) und $(85 \pm 4)^\circ$ (Phasenwinkel δ , Abbildung 5.14(c)).

Es muss an dieser Stelle erwähnt werden, dass die globale Analyse ebenfalls mit drei \cos^2 –Funktionen und den dazugehörigen Amplituden durchgeführt wurde. Die auf diese Weise erhaltenen Ergebnisse waren, im Gegensatz zu der globalen Analyse mit zwei Beiträgen, stark abhängig von den Startparametern des Anpassungsprozesses.

5.3.3 Diskussion

Generell unterscheiden sich die Spektren aller 102 individuellen Komplexe stark in ihrer Gestalt. Ihre Hauptabsorptionsbanden sind asymmetrisch und weisen Schultern in der roten oder blauen Flanke, ausgehend vom Maximum, auf. Nur in wenigen Fällen, beispielsweise in Abbildung 5.6(c,d), ist keine Schulter vorhanden oder nur schwer erkennbar. Alle Spektren zeigen eine starke Abhängigkeit der Fluoreszenz von der Polarisation der Anregungsstrahlung. Das bedeutet, dass eine grundlegende supramolekulare Struktur, wie auch immer sie geartet sein mag, vorhanden sein muss. Die Histogramme der Abbildung 5.13 belegen, dass die Maxima über einen breiten spektralen Bereich verteilt sind und breite Absorptionsbanden

aufweisen. Die Verteilung des spektralen Schwerpunkts im Vergleich zu der Verteilung der Maxima ist schmaler, was zu der Annahme führt, dass der energetisch niedrigste Exzitonenzustand nicht notwendigerweise die höchste Oszillatorenstärke besitzt. In Anbetracht der Tatsache, dass Chlorosome des Wildtyp *Chlorobaculum tepidum* einige BChl Molekülaggregate verschiedener Homologe enthalten (vgl. Kapitel 2), kann ebenfalls davon ausgegangen werden, dass diese in ihrer Größe variieren. Diese strukturelle Unordnung beeinflusst die optischen Eigenschaften der Aggregate die zum Gesamtspektrum beitragen.

Es wird vermutet, dass die im Chlorosom enthaltenen BChl Moleküle 10 bis 30 zylindrische Aggregate ausbilden [15]. Im Idealfall weist ein solches zylindrisches J-Aggregat drei zueinander orthogonale exzitonische Dipolmomente auf (vgl. Kapitel 3.3.1). Das Übergangsdipolmoment, welches dem Zustand mit höchster Oszillatorenstärke zugehörig ist, ist dabei parallel zur Hauptachse des zylindrischen Aggregates polarisiert, wohingegen die zwei anderen Zustände energetisch entartet sind und die zugehörigen Übergangsdipolmomente senkrecht zur Hauptachse polarisiert sind. Unter diesen Umständen trügen zwei Banden zum Spektrum bei. Das Ergebnis der globalen Analyse, bei der zwei Komponenten $A^\phi(\nu)$ und $A^{\phi+\delta}(\nu)$ angenommen wurden, zeigt deutlich, dass sie auf dem Einzelkomplexlevel (vgl. Abbildung 5.14(b,c)) die exzitonischen Übergangsdipolmomente in Unterbanden gruppiert, die energetisch separiert sind und verschiedene Polarisierungen zueinander zeigen. Das gibt Grund zu der Annahme, dass die in Chlorosomen enthaltenen Aggregate von einem perfekten zylindrischen J-Aggregat abweichen und somit eine gewisse energetische und strukturelle Unordnung besitzen. In Kapitel 6 werden die hier erhaltenen Ergebnisse mit Computersimulationen verschiedener J-Aggregate, die auf die gleiche Art und Weise ausgewertet wurden, verglichen.

5.4 Untersuchungen an Chlorosomen des *bchR* Mutanten des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum*

Im *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten ist die C₁₂ Methyltransferase der Bakteriochlorophyll *c* Moleküle codiert, wodurch an der C₁₂ Position für die R₁₂ Seitenkette eine Methylgruppe ausgebildet wird. Auf diese Weise wird die Variation der BChl *c* Homologe innerhalb der Chlorosome reduziert. Das wiederum führt vermutlich zu geringerer struktureller Heterogenität der BChl Molekülaggregate innerhalb der Chlorosome des *bchR* Mutanten im Vergleich zu denen des Wildtyps und somit zu homogeneren optischen Eigenschaften. In diesem Abschnitt ist die Untersuchung einzelner Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten mittels Fluoreszenz-Anregungsspektroskopie auf ihre optischen Eigenschaften beschrieben.

5.4.1 Experimentelle Ergebnisse

Aufnahme von polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren

Es wurden polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren von einzelnen Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten bei 1,5 K aufgenommen. Die Aufnahmen der Spektren erfolgten in zwei Schritten. Zuerst wurden im Jahr 2011 Spektren von 18 einzelnen Chlorosomen aufgenommen. Hierzu wurden die Komplexe in einem Bereich von 12 570 cm⁻¹ bis 14 000 cm⁻¹ angeregt und die Fluoreszenz des Baseplate-Komplexes wurde mittels der BP 850/80 Detektionsfilter aufgenommen. Spektren von 19 weiteren Chlorosomen wurden im Jahr 2013 aufgenommen. Die Anregung erfolgte hier entweder zwischen 12 570 cm⁻¹ und 14 327 cm⁻¹, bei einer Detektion der Fluoreszenz unter der Benutzung des BP 850/80 Bandpassfilters oder zwischen 12 920 cm⁻¹ und 14 327 cm⁻¹ unter der Verwendung eines LP 780 Detektionsfilters. Jedes Chlorosom wurde über beide Wege vermessen. Im ersten Fall wird ausschließlich die Fluoreszenz des Baseplate-Komplexes, im zweiten Fall

werden sowohl die Fluoreszenz der Baseplate als auch die Fluoreszenz des BChl *c* Aggregate detektiert. Die Anregungs- und Detektionsbereiche sind in Abbildung 5.15(a) graphisch verdeutlicht und in Tabelle 5.2 nochmals aufgelistet.

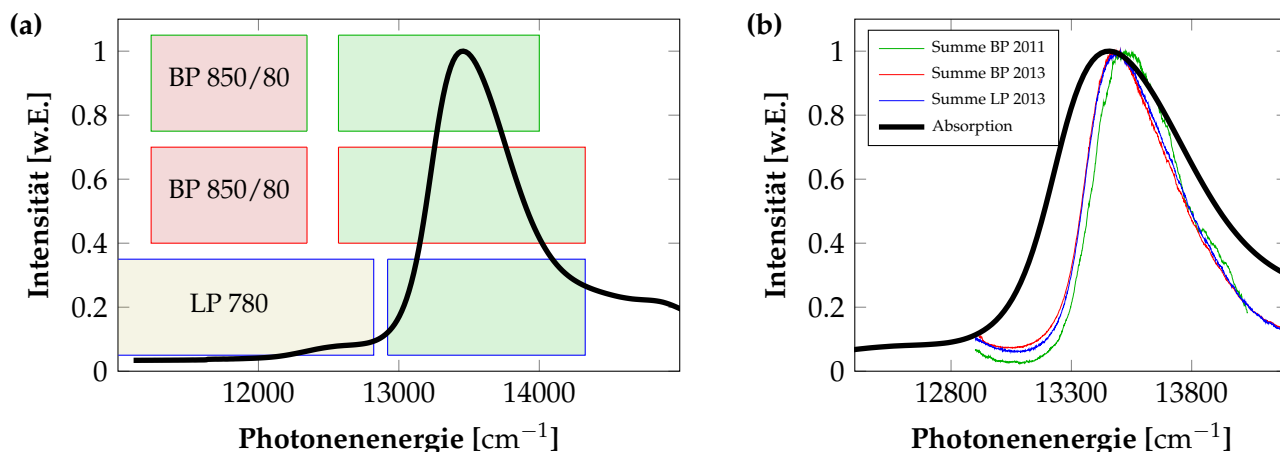


Abbildung 5.15: (a) Absorptionsspektrum von Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten (black), Anregungsintervalle (grün) und die zugehörigen spektralen Detektionsbereiche (rot, gelb); (b) Absorptionsspektrum (black) und Summenspektren der unter verschiedenen Bedingungen durchgeführten Einzelkomplexmessungen. Die Farbe der Spektren stimmt mit der Farbe der Umrandungen der Vierecke überein, welche die spektralen Anregungsintervalle und Detektionsbereiche andeuten.

Die Detektions- und Anregungsintervalle sind durch eingefärbte Kästen in Abbildung 5.15(a) verdeutlicht. Die grünen Kästen repräsentieren dabei die Anregungsbandbreite des Lasers, die roten (BP 850/80) und der gelbe (LP 780) Kästen die Transmission der verwendeten Detektionsfilter. Die Bandbreiten der 2011 durchgeführten Messungen werden durch die oberen Kästen dargestellt, die der 2013 durchgeführten Messungen durch die mittleren und unteren Kästen. Nach erneuter Kalibrierung des verwendeten Lasers wurden 2013 höhere Energien erreicht als 2011.

Die Summenspektren der bei tiefen Temperaturen aufgenommen Einzelkomplexspektren sind zusammen mit dem Raumtemperaturabsorptionsspektrum in Abbildung 5.15(b) dargestellt, wobei die jeweiligen Summenspektren in der gleichen Farbe abgebildet sind, in der die Markierungen der zugehörigen Anregungs- und Detektionsbereiche aus Abbil-

Jahr der Aufnahme	Anregungsbereich (grün)	Anregungsfilter	Detektionsbereich (rot)	Detektionsfilter
2011	12 570 cm ⁻¹ – 14 000 cm ⁻¹	-	12 346 cm ⁻¹ – 11 236 cm ⁻¹	BP 850/80
2013	12 570 cm ⁻¹ – 14 327 cm ⁻¹	BP 736/128	12 346 cm ⁻¹ – 11 236 cm ⁻¹	BP 850/80
	12 920 cm ⁻¹ – 14 327 cm ⁻¹	BP 736/128	< 12 821 cm ⁻¹	LP 780

Tabelle 5.2: Anregungs- und Detektionsbereiche der Fluoreszenz-Anregungsspektren.

dung 5.15(a) umrandet sind (grün, rot und blau). Die Summenspektren sind gegenüber dem Absorptionsspektrum geringfügig zu höheren Energien verschoben, was möglicherweise dem Abkühlungsprozess geschuldet ist. Aufgrund der Tatsache, dass sich die Summenspektren nicht voneinander unterscheiden, kann geschlussfolgert werden, dass eine Lagerung der Stammlösung über zwei Jahre und bei –20 K keinen Einfluss auf die Qualität der Probe haben. Aufgrund der Konsistenz der Summenspektren (grün und rot, Abbildung 5.15(b)) der unter gleichen Detektionsbedingungen aufgenommen Spektren der in 2011 und 2013 durchgeführten Einzelkomplexmessungen, werden diese in einem gemeinsamen Fundus zusammengefasst.

Drei der insgesamt 37 aufgenommen polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren sind in Abbildung 5.16(a,c,e) dargestellt. Diese wurden jeweils zwischen 12 570 cm⁻¹ und 14 327 cm⁻¹ angeregt und ihre Fluoreszenz mittels des BP 850/80 Bandpasses ausschließlich von der Baseplate detektiert. Jedes der polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren besteht wiederum aus 200 einzelnen Spektren zwischen denen die Polarisation der Anregungsstrahlung fortlaufend in Schritten von 3° gedreht wurde. Die zugehörigen Durchschnittsspektren sind in schwarz in den Abbildungen 5.16(b,d,f) dargestellt.

Die polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren zeigen eine deutliche Abhängigkeit der Fluoreszenz in Abhängigkeit der Polarisation der Anregungsstrahlung. Im Gegensatz zu den Summenspektren (Abbildung 5.15(b)) und den Durchschnittsspektren (schwarz, Abbildungen 5.16(b,d,f)) unterscheiden sie sich die polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren stark voneinander. Bei genauerer Betrachtung ist eine Pha-

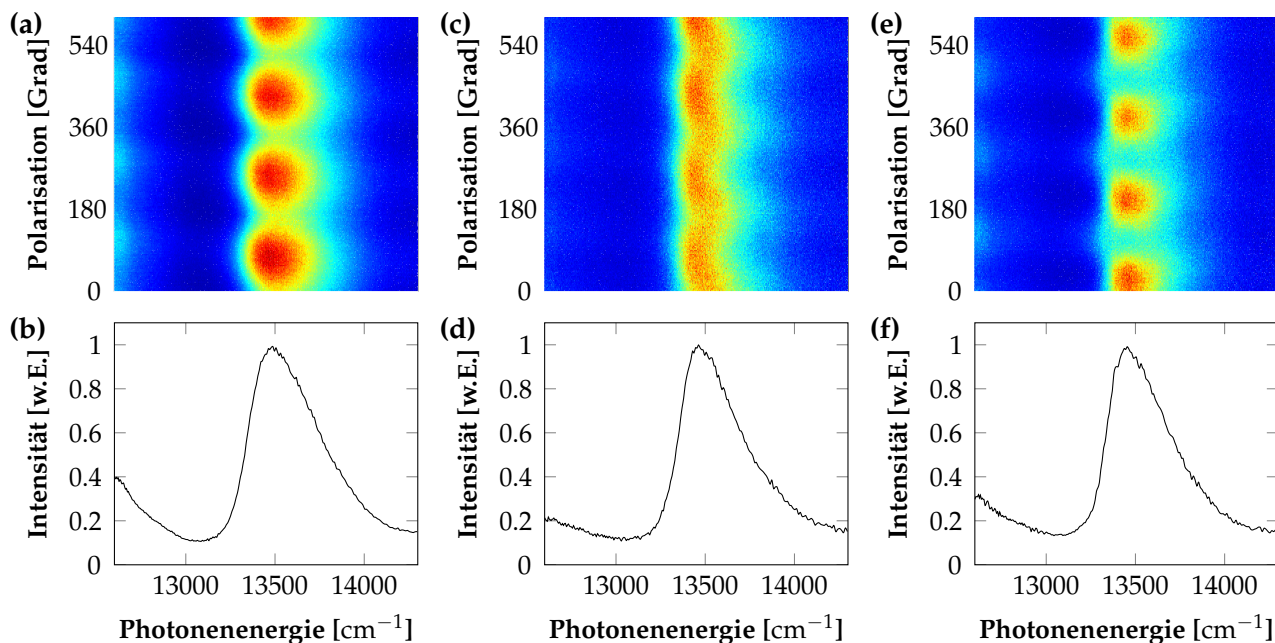


Abbildung 5.16: (a,c,e) Stapelung von 200 Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome als Funktion der Polarisation der Anregungsstrahlung in einer zweidimensionalen Repräsentation. Zwischen zwei sukzessiv aufgenommenen Fluoreszenz-Anregungsspektren wurde die Polarisation um 3° gedreht. Die Intensität ist farbcodiert. (b,d,f) Durchschnittsspektrum (schwarz) der 200 einzelnen Fluoreszenz-Anregungsspektren .

sendifferenz in der polarisationsaufgelösten Darstellung der Hauptabsorptionsbande der BChl Aggregate zwischen der niederenergetischen und hochenergetischen Flanke ersichtlich. Besonders deutlich ist dies in den Abbildungen 5.16(c,e) erkennbar.

Die Durchschnittsspektren zeigen unterhalb einer Photonenenergie von $13\,000\text{ cm}^{-1}$ einen Anstieg der Fluoreszenzintensität, was der Absorption des Baseplate-Komplexes zuzuordnen ist. Aus diesem Grund findet die Auswertung der Absorptionsbande, die den Q_Y Übergangsdipolmomenten der BChl Moleküle zugeordnet ist, zwischen $13\,000\text{ cm}^{-1}$ und $14\,000\text{ cm}^{-1}$ statt. Die spektrale Position der Maxima, spektrale Schwerpunkte und Linienbreiten der Beispielspektren sowie die Mittelwerte und Standardabweichungen aller 37 Spektren sind in Tabelle 5.3 zu finden. Die Verteilungen der genannten Größen sind in Abbildung 5.17 dargestellt.

Generell haben die Durchschnittsspektren eine asymmetrische Form, was sich in einem steilen Anstieg der niederenergetischen Flanke bis hin zum Maximum und einem im Vergleich dazu flacheren Abfall der hochenergetischen Flanke zeigt. Der Mittelwert der Linienbreiten (FWHM) ist mit 494 cm^{-1} deutlich geringer als die des Raumtemperaturabsorptionsspektrums von 716 cm^{-1} (vgl. Tabelle 5.1). Dies ist auf die Reduktion homogener Verbreiterungsmechanismen bei tiefen Temperaturen zurückzuführen.

	Maximum [cm^{-1}]	spektraler Schwerpunkt [cm^{-1}]	FWHM [cm^{-1}]
BSP 1, Abbildung 5.16(a,b)	13 478	13 547	478
BSP 2, Abbildung 5.16(c,d)	13 474	13 526	433
BSP 3, Abbildung 5.16(e,f)	13 462	13 523	426
Verteilung über 37 Komplexe	$13\,505 \pm 39$	$13\,553 \pm 24$	494 ± 62

Tabelle 5.3: Charakterisierung der Durchschnittsspektren der polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren von Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten und der Mittelwert und die Standardabweichung der Verteilungen über 37 individuelle Komplexe.

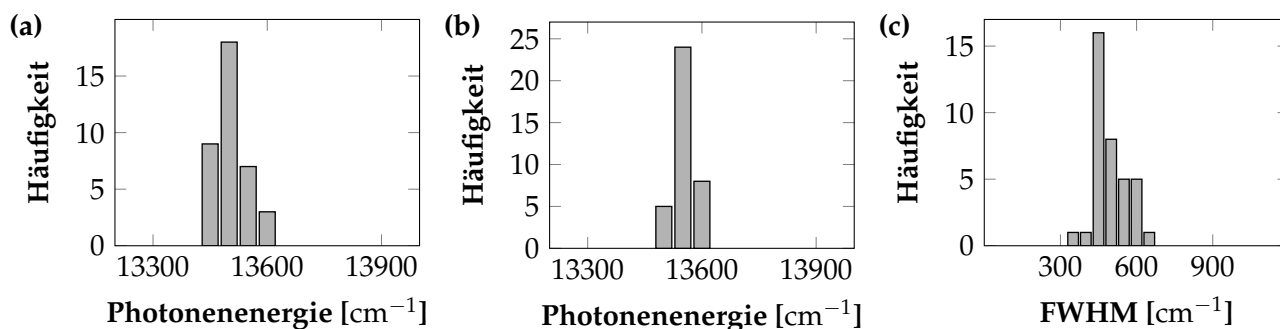


Abbildung 5.17: Verteilungen der bei tiefen Temperaturen (1,5 K) untersuchten Chlorosome. (a) Maxima der Durchschnittsspektren. (b) Spektrale Schwerpunkte. (c) Linienbreite (FWHM).

Der Vollständigkeit halber sollen an dieser Stelle die polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren eines individuellen Chlorosoms gezeigt werden, deren Fluoreszenz sowohl durch den BP 850/80 Bandpassfilter als auch durch den LP 780 Langpassfilter detektiert wurden. Diese sind in Abbildung 5.18(a,b) (BP 850/80) und Abbildung 5.18(c,d)

(LP 780) dargestellt. Durch die Einschränkung der Anregungsbandbreite durch den Langpassfilter weist das Durchschnittsspektrum in Abbildung 5.18(d) im Gegensatz zu dem in Abbildung 5.18(b) keinen Anstieg der Fluoreszenz durch den Baseplate-Komplex auf. Generell erscheinen beiden Spektren gleich. Eine detaillierte Analyse der auftretenden Unterschiede durch die beiden verschiedenen Detektionsbereiche wird in der Masterarbeit von L. M. Wohlrab beschrieben [161]. Im Folgenden wird deshalb nur auf die Spektren der 37 individuellen Komplexe eingegangen, deren Fluoreszenz unter der Verwendung des BP 850/80 Bandpassfilters detektiert wurde.

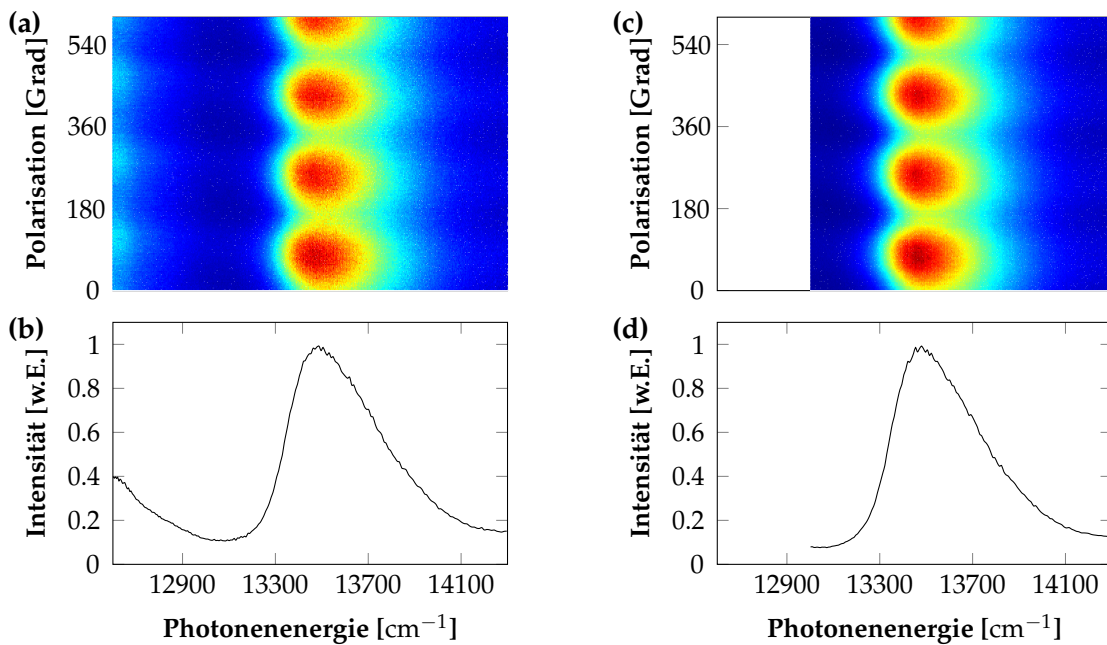


Abbildung 5.18: (a,c) Stapelung von 200 Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome als Funktion der Polarisation der Anregungsstrahlung in einer zweidimensionalen Repräsentation. Zwischen zwei sukzessiv aufgenommenen Fluoreszenz-Anregungsspektren wurde die Polarisation um 3° gedreht. Die Intensität ist farbcodiert. (b,d) Durchschnittsspektrum der 200 individuellen Fluoreszenz-Anregungsspektren. Zur besseren Vergleichbarkeit sind die mit unterschiedlichen Filtern aufgenommenen Spektren auf der gleichen energetischen Skala abgebildet.

Modulationstiefe der polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren

Um einen energetischen Überlapp der verbreiterten Exzitonzustände, deren Übergangsdipolmomente unterschiedlich polarisiert sind, ansatzweise zu charakterisieren bietet sich die Modulationstiefe an. Diese wurde für die polarisationsaufgelösten Spektren der 37 zuvor beschriebenen Komplexe ermittelt. In Abbildung 5.19 sind drei Beispiele der energieabhängigen Modulationstiefe $M(\nu)$ dargestellt.

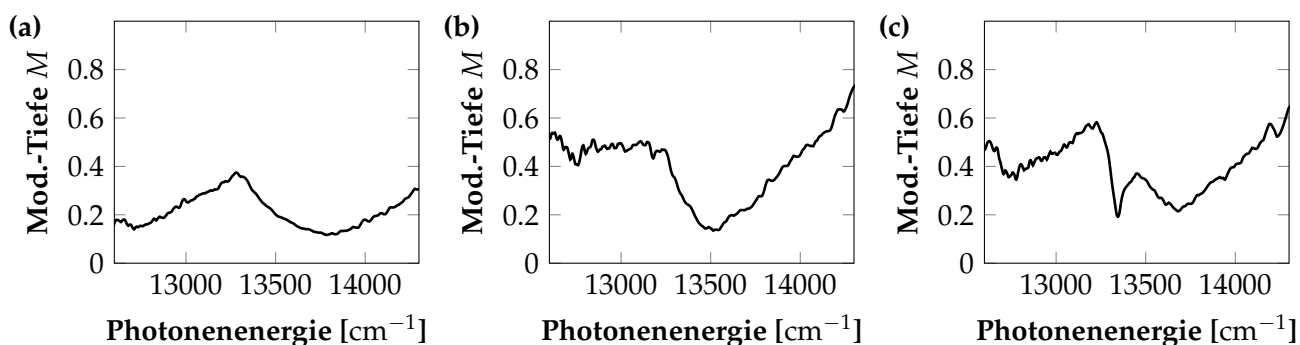


Abbildung 5.19: Anregungsenergieabhängige Modulationstiefe $M(\nu)$ der zugehörigen Beispielspektren der Abbildung 5.16 in der gleichen Reihenfolge ihres Auftretens.

Für 34 der 37 Komplexe fällt die Modulationstiefe im Bereich der Hauptabsorptionsbande (zwischen $13\,000\text{ cm}^{-1}$ und $14\,000\text{ cm}^{-1}$) auf einen niedrigen Wert von ungefähr 0,2 ab. Die Abbildungen 5.19(a,b) zeigen ein solches Verhalten, wobei das Minimum in Abbildung 5.19(a) sich über einen ausgedehnten Spektralbereich erstreckt als das Minimum in Abbildungen 5.19(b). Das bedeutet, dass in Beispiel (a) der Unterschied der Polarisierungen der Übergangsdipolmomente der Zustände, die energetisch dicht beieinander liegen, höher ist als in Beispiel (b). Der energetische Verlauf der Modulationstiefe der Abbildung 5.19(c) zeigt einen steilen Abfall auf der niederenergetischen Flanke der Q_Y -Region, der von einem steilen Anstieg gefolgt wird und danach erneut abfällt. Dieser Verlauf legt nahe, dass in dem Bereich des lokalen Maximums bei ungefähr $13\,480\text{ cm}^{-1}$ die Übergangsdipolmomente der Exzitonzustände eine geringere Abweichung von einer mittleren Ausrichtung zeigen, als

auf der niederenergetischen und hochenergetischen Seite. Generell sind die unterschiedlichen Verläufe der Modulationstiefen ein Indiz dafür, dass Chlorosome des *bchR* Mutanten, genau wie die des Wildtyp (vgl. Abschnitt 5.2.3), bei tiefen Temperaturen in einer gewissen Konformation eingeschlossen sind.

Globale Analyse der polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren

Polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren von 37 individuellen Chlorosomen wurden mittels der globalen Analyse ausgewertet. Drei Beispiele sind in Abbildung 5.20 dargestellt. Hierbei handelt es sich um die gleichen Beispiele, die zuvor in Abbildung 5.16 gezeigt wurden.

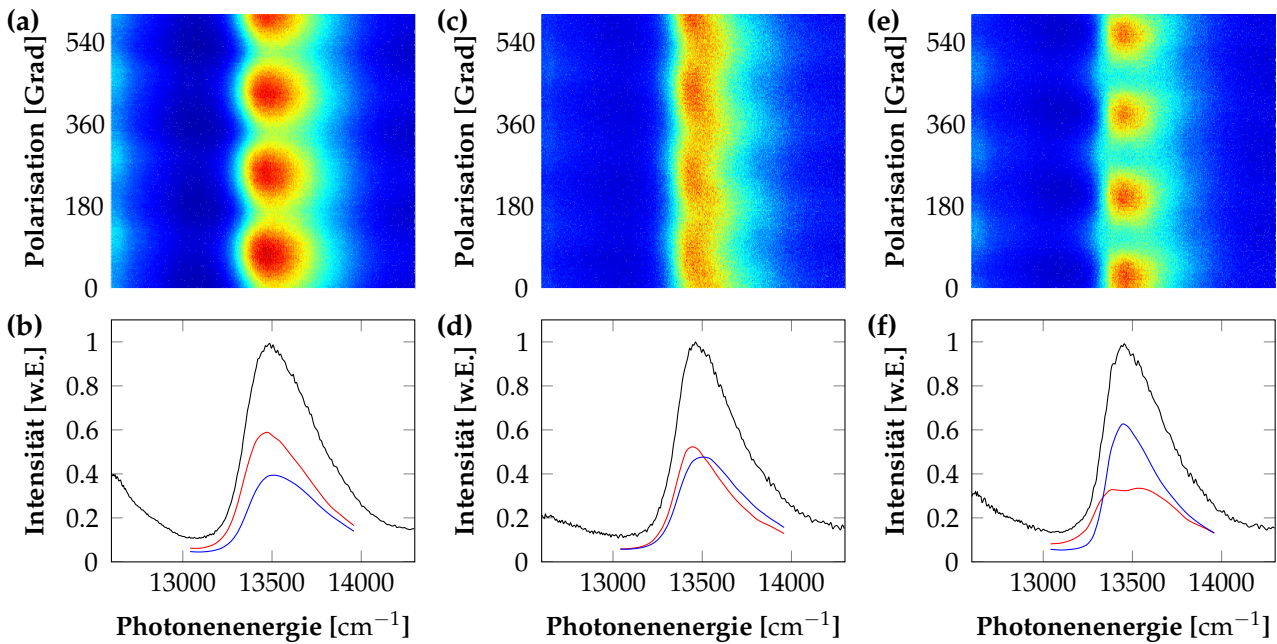


Abbildung 5.20: (a,c,e) Stapelung von 200 Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome als Funktion der Polarisation der Anregungsstrahlung in einer zweidimensionalen Repräsentation. Zwischen zwei sukzessiv aufgenommenen Fluoreszenz-Anregungsspektren wurde die Polarisation um 3° gedreht. Die Intensität ist farbcodiert. (b,d,f) Durchschnittsspektrum der 200 individuellen Fluoreszenz-Anregungsspektren (schwarz) und die PAS der globalen Analyse (rot, blau). Die PAS sind auf der gleichen relativen Skala gezeigt, die für das Durchschnittsspektrum normiert wurde.

Die polarisations-assoziierten Spektren (PAS), die als Ergebnis der globalen Analyse erhalten werden sind jeweils in den Abbildungen 5.20(b,d,f) dargestellt, wobei das in rot abgebildete Spektrum gegenüber dem in blau abgebildeten den niedrigeren spektralen Schwerpunkt besitzt. Die genauen Werte der spektralen Schwerpunkte, sowie der energetischen Separation der spektralen Schwerpunkte der nieder- und hochenergetischen PAS und der Phasendifferenz δ finden sich in Tabelle 5.4. Die PAS der ersten beiden Beispiele (Abbildung 5.20(a,b;c,d)) weisen mit einem klar erkennbaren Maximum und keinen ausgeprägten Schultern die gleiche Gestalt auf wie das zugehörige Durchschnittsspektrum (schwarz). Das Beispiel in Abbildung 5.20(e,f) verhält sich anders. Das niederenergetische PAS (rot) weist augenscheinlich zwei Maxima auf, die dem Spektrum eine flache Erscheinung verleihen. Drei der 37 ausgewerteten polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren liefern durch die globale Analyse jeweils ein PAS dieser Erscheinung.

	spektraler Schwerpunkt			spektrale Differenz [cm ⁻¹]	Phasenwinkel [Grad]
	Durchschnitt	PAS 1	PAS 2		
	[cm ⁻¹]	[cm ⁻¹]	[cm ⁻¹]		
BSP 1, Abbildung 5.16(a,b)	13 547	13 537	13 561	24	89,5
BSP 2, Abbildung 5.16(c,d)	13 536	13 522	13 550	28	87,6
BSP 3, Abbildung 5.16(e,f)	13 523	13 512	13 532	20	87,7
Verteilung über 37 Komplexe	13 553 ± 24	13 553 ± 32	13 566 ± 37	14 ± 13	89,1 ± 3,3

Tabelle 5.4: Charakterisierung der PAS der globalen Analyse der polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten und der Mittelwert und die Standardabweichung der Verteilungen über 37 individuelle Komplexe.

Aufgrund der Ähnlichkeit der Spektren sind die Werte der Positionen der spektralen Schwerpunkte, sowie die energetische Separation der spektralen Schwerpunkte der PAS und der Phasenwinkel δ eng um ihre Mittelwerte verteilt. Die Verteilungen für die 37 ausgewerteten Spektren sind in Abbildung 5.21 dargestellt und ihre genauen Werte in Tabelle 5.4 zusammengestellt.

Die nieder- und hochenergetischen PAS der einzelnen 37 polarisationsaufgelösten Fluores-

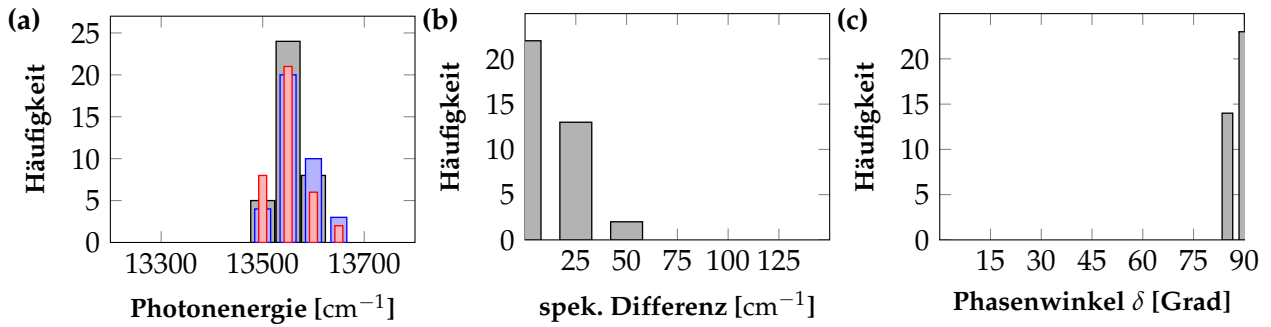


Abbildung 5.21: Verteilungen der Ergebnisse aus der globalen Analyse der bei tiefen Temperaturen aufgenommenen Spektren der Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten. (a) Spektrale Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums (schwarz) und der nieder- und hochenergetischen PAS (rot, blau). (b) Spektrale Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS. (c) Phasenwinkel δ zwischen den nieder- und hochenergetischen PAS.

zenz-Anregungsspektren zeigen einen hohen spektralen Überlapp und eine Phasendifferenz δ , die geringfügig von 90° abweicht. Das bedeutet, dass unter der Hauptabsorptionsbande Übergangsdipolmomente unterschiedlicher Polarisierungen verborgen sind, aber deren zugehörige Exzitonzustände spektral benachbart sind. Durch die Vielzahl an exzitonischen Zuständen (vgl. Kapitel 5.3.3) und unter der Berücksichtigung der Tatsache, dass die Schwerpunkte der PAS geringfügig energetisch separiert sind (vgl. Tabelle 5.4) liegt die Schlussfolgerung nahe, dass Exzitonzustände, deren zugehörige Übergangsdipolmomente ähnlich polarisiert sind, energetisch nicht geordnet sind. Diese Tatsache und gleichmäßige Erscheinung der nieder- und hochenergetischen PAS zeugen davon, dass eine strukturelle Heterogenität zwar reduziert, aber eine signifikante energetische Unordnung vorhanden ist.

5.4.2 Diskussion

Die bei tiefen Temperaturen aufgenommenen polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren individueller Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten sind, verglichen mit denen des Wildtyp, schmaler und homogener. Dies hat vermutlich die Ursache in der Reduktion struktureller Unordnung durch die Verringerung der Variation der

enthaltenen Homologe an BChl *c* Molekülen. Lässt man die energetische Unordnung, verursacht durch verschiedene Homologe an BChl *c* Molekülen außer acht, muss die reduzierte strukturelle Unordnung eine Ursache der Methylation der C₁₂ Position sein, durch welche die R₁₂ Seitengruppe durch eine Methylgruppe festgelegt wird. Die Seitengruppe an der C₁₂ Position befindet sich, bezogen auf ein BChl Molekül, in direkter Nachbarschaft der C₁₃¹ Keto-gruppe, zwischen der durch Aggregation der BChl Moleküle mit der Hydroxylgruppe der C₁₃¹ Position benachbarter Moleküle eine Bindung entsteht. Abhängig von der Seitengruppe R₁₂ der C₁₂ Position könnte diese Bindung beeinflusst werden, so dass die Winkel der Q_Y Übergangsdipolmomente benachbarter BChl Moleküle in einer gewissen Bandbreite lägen und somit eine strukturelle Unordnung innerhalb der BChl Molekülaggregate erzeugten. Abbildung 5.22 veranschaulicht dieses Verhalten.

Unter diesem Umstand wäre es verständlich, dass eine Festlegung der R₁₂ Seitengruppe einen definierten Einfluss auf die Bindung zur Folge hätte und dadurch diese strukturelle Unordnung bzw. die Bandbreite der Winkel zwischen den Q_Y Übergangsdipolmomenten benachbarter BChl Moleküle reduziert würde. Durch eine auf diese Weise reduzierte strukturelle Unordnung könnten des Weiteren größere BChl Molekülaggregate innerhalb der Chlorosome ausgebildet werden, die eine geringere Anzahl von Unterdomänen aufweisen, in denen die BChl Moleküle auf verschiedenen Weise angeordnet sind. Durch die Reduzierung der Unterdomänen wäre es möglich, dass eine Anregung über eine größere Anzahl an BChl Molekülen innerhalb eines Aggregates delokalisiert wäre.

Gleichwohl weisen die frequenzabhängigen Modulationstiefen $M(\nu)$, sowie die polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren verschiedener Chlorosome deutliche Unterschiede auf. Eine mögliche Erklärung dafür ist, dass BChl Molekülaggregate bei tiefen Temperaturen in bestimmten Konfiguration „eingefroren“ werden (vgl. Abschnitt 5.2).

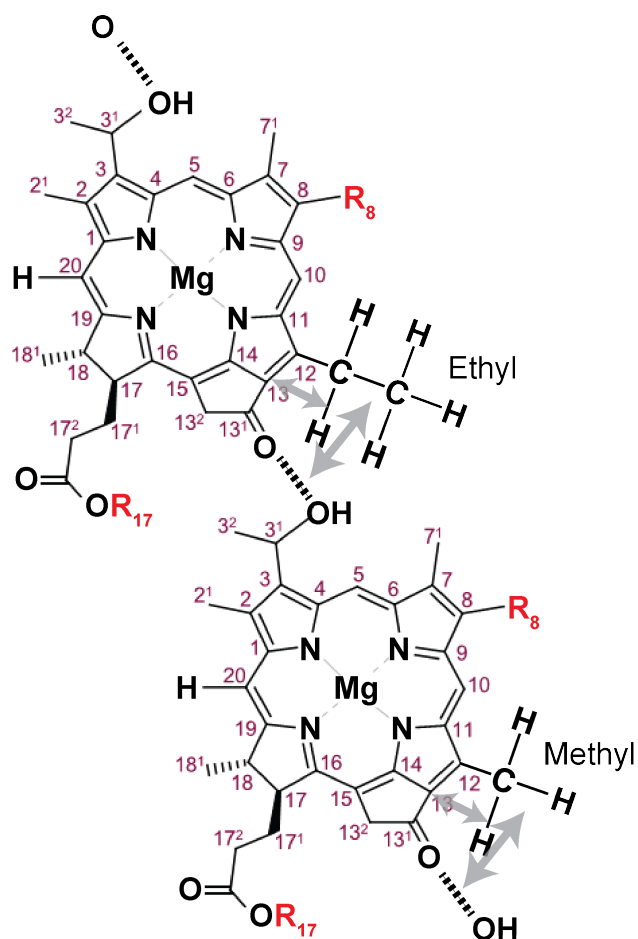


Abbildung 5.22: Bindungen zwischen benachbarten BChl Molekülen und Andeutung des Einflusses (graue Doppelpfeile) der Seitengruppen (Methyl- oder Ethylgruppe) an der C₁₂ Position. Die BChl Gerüste wurden nach Referenz [105] adaptiert.

6 Simulationen verschiedener J-Aggregate

Für die Aggregation der in einem Chlorosom enthaltenen BChl Moleküle sind bis dato zahlreiche Modelle vorgeschlagen worden. Die am häufigsten vorgeschlagene Struktur der BChl Molekülaggregate sind zylindrische Strukturen, sowohl einzelwandige, als auch mehrwandige (vgl. Kapitel 2.4). Cryo-Elektronenmikroskopieaufnahmen belegen diese Annahme, wenngleich die Auflösung die Frage offen lässt, ob es sich dabei um geschlossene Zylinder oder dreidimensionale, spiralförmige Aggregate handelt [110]. Dreidimensionale, spiralförmige Aggregate sind im Wesentlichen zweidimensionale Blätter bzw. Lamellen (s.u.), die entlang einer bestimmten Richtung spiralförmig aufgewickelt werden. Eine weitere Aggregatstruktur sind Lamellen, wie sie in den Referenzen [18, 109] beschrieben sind. Im Rahmen dieser Arbeit wurden zwei einzelwandige Zylinder verschiedener Durchmesser, ein doppelwandiger Zylinder, der aus den einzelwandigen Zylindern zusammengesetzt ist, zwei dreidimensionale Spiralen verschiedener Durchmesser und ein planares Lamellenaggregat simuliert. Als Grundgerüst der Nahordnung dient die in Referenz [105] beschriebene Einheitszelle, aus der ein *syn-anti* konfiguriertes Gitter aufgebaut wird (s.u.). Auf welche Weise die supramolekulare Struktur aus diesem Gitter erzeugt wird, wird in den jeweiligen Abschnitten beschrieben. In jedem Fall wurde die Ausdehnung der BChl Moleküle vernachlässigt und ihre Q_Y Übergangsdipolmomente wurden als Punktdipole angenommen. Jede Aggregatstruktur wurde sowohl ohne als auch mit gaußförmig verteilter diagonalen Unordnung simuliert. Im Falle der Simulationen mit Unordnung wurden jeweils 1000 Berechnungen durchgeführt.

6.1 Berechnungen

Ausgehend von dem in Gleichung (3.9) beschriebenen Hamiltonian, wurde für die Simulationen ein Störterm ΔE_n eingefügt, der die diagonale Unordnung repräsentiert und damit die energetische Abweichung des n -ten Übergangs von einem Mittelwert E_0 . Das Resultat findet sich in Gleichung (6.1).

$$H = \sum_{n=1}^N (E_0 + \Delta E_n) |n\rangle \langle n| + \frac{1}{2} \sum_{n=1}^N \sum_{n \neq m} V_{nm} |n\rangle \langle m| \quad (6.1)$$

Die diagonale Unordnung ΔE_n ist gaußförmig mit einer Standardabweichung von $\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$, was einer Halbwertsbreite von $\text{FWHM} = 573 \text{ cm}^{-1}$ entspricht, verteilt. Dieser Wert ist geringer als die Halbwertsbreite des Wildtyp Chlorosom-Ensemblespektrums (897 cm^{-1} , vgl. Tabelle 5.1). Der Wert der Standardabweichung wurde relativ hoch gewählt, um eine gewisse Heterogenität der BChl Molekülaggregate widerzuspiegeln. V_{nm} gibt die Wechselwirkungsenergie zwischen dem n -ten und m -ten Element des Aggregates an. In den Berechnungen wurden Wechselwirkungen zwischen allen Elementen, nicht nur den nächsten Nachbarn, zugelassen, allerdings sind diese auf Dipol-Dipol-Wechselwirkungen (vgl. Gleichung (3.5)) reduziert.

Aus der daraus resultierenden Matrix wurden die Eigenvektoren und Eigenwerte mittels numerischer Diagonalisierung erhalten. Letztere repräsentieren die Energien der Exziton-Zustände. Die Einträge eines Eigenvektors sind ein Maß für den Einfluss jeder einzelnen Komponente, die zu dem zugehörigen Eigenzustand beiträgt. Die Übergangsdipolmomente $\vec{\mu}_k$ jedes einzelnen Exzitonzustands $|k\rangle$ errechnen sich aus dem Produkt der Eigenvektoren und den monomeren Übergangsdipolmomenten. Aus ihnen lässt sich über $|\vec{\mu}_k|^2$ die Oszillatorenstärke der Exzitonzustände berechnen.

In Kapitel 2.4 wurden bereits verschiedene Modelle für die in Chlorosomen enthaltenen BChl Molekülaggregate erwähnt. Die wahrscheinlichsten unter dieser Vielfalt scheinen einzel-

oder mehrwandige Zylinder, Spiralen oder Lamellen zu sein. Aus diesem Grund wurden im Rahmen dieser Arbeit drei zylindrische Aggregate, zwei einzelwandige (unterschiedlichen Durchmessers) und ein doppelwandiger (zusammengesetzt aus den einzelwandigen), zwei Spiralen (unterschiedlichen Durchmessers) und eine planare Lamelle simuliert. Jedes der Aggregate wurde zuerst ohne diagonale Unordnung $\Delta E_n = 0 \text{ cm}^{-1}$ berechnet. Daraufhin wurde eine gaußförmig verteilte diagonale Unordnung mit einer Standardabweichung von $\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$ angenommen und es wurden 1000 Simulationen für jedes Modell durchgeführt. Anschließend wurden durch die Simulationen erhaltene polarisationsaufgelöste Spektren durch eine globale Analyse, gleich der, die für die experimentellen, polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren verwendet wurde (vgl. Kapitel 5.3), ausgewertet.

Als Grundlage der Anordnung der monomere Übergangsdipolmomente der simulierten Aggregate wurde eine Einheitszelle herangezogen, die als Resultat aus MAS NMR Experimenten an Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp und *bchR* Mutanten hervor ging [105]. Ihre grundlegenden Achsen haben die Längen $a = 1,25 \text{ nm}$ (a-Achse) und $b = 0,98 \text{ nm}$ (b-Achse) und bilden einen Winkel von $\gamma = 122^\circ$. Aus dieser Einheitszelle ist es möglich ein schräges Gitter (engl.: oblique lattice) zu konstruieren, dessen Einheitszelle zwei Dipole enthält, die um $a/2$ entlang der a-Achse gegeneinander verschoben sind und aufgrund der *syn-anti* Konfiguration abwechselnd unter Winkeln von $\alpha = \pm 4^\circ$ aus der Gitterebene heraus zeigen [105, 108]. Diese Anordnung ist in Abbildung 6.1 dargestellt. Weitere, notwendige Parameter der Simulationen sind die Übergangsenergie der Monomere $E_0 = 14\,993 \text{ cm}^{-1}$ [162] und die Dipolstärke $\mu = 5,5 \text{ Debye}$ [108, 111].

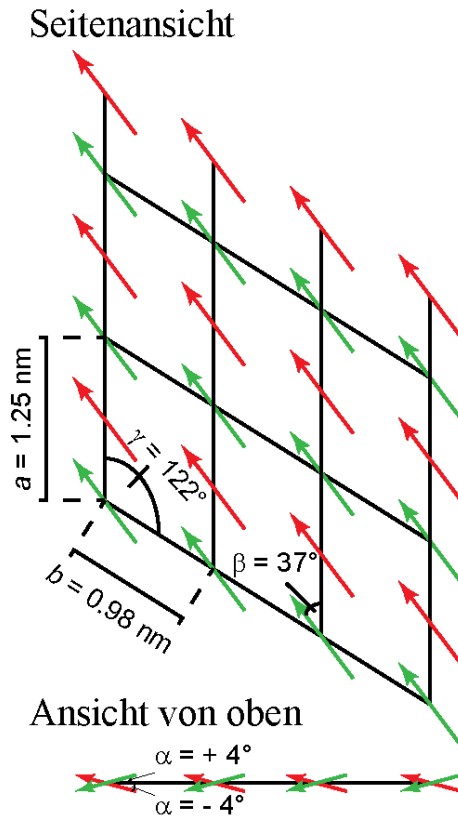


Abbildung 6.1: Ausschnitt eines *sy-anti* konfigurierten Gitters, das nach der in Referenz [105] beschriebenen Einheitszelle aufgebaut ist. Nach [105].

6.2 Zylindrische Aggregate

Einzel- oder mehrwandige zylindrische Aggregate sind die am häufigsten angenommene Struktur zu der sich in einem Chlorosom enthaltene BChl Moleküle anordnen. Ausgehend von der zuvor beschriebenen Einheitszelle und dem schrägen Gitter, lässt sich ein Zylinder dadurch erzeugen, dass das Gitter um seine *a*-Achse aufgerollt wird. Es ist dabei zu beachten, dass ein geschlossener Zylinder entsteht und die *x*- und *y*-Koordinaten der Gitterpunkte, die auf der „Naht“ liegen gleich sind. Das bedeutet, dass sich Gitterpunkte die bei einem

Windungswinkel von 0° und 360° platziert werden ausschließlich in ihren z-Koordinaten unterscheiden. Um diese Randbedingung zu ermöglichen wurde die Länge $b = 0,98$ nm der Einheitszelle geringfügig auf einen Wert von $b = 0,98226$ nm geändert. Mit dieser leicht veränderten Einheitszelle wurden geschlossene Zylinder mit Durchmessern von 1,42 nm, 2,70 nm, 4,00 nm, 5,32 nm, 6,64 nm, 7,96 nm, 9,82 nm, etc. erhalten. Ein solcher Zylinder ist in Abbildung 6.2 dargestellt. Zwei der Helices, die sich entlang der b-Achse (schwarze Linie) um den Zylinder winden sind hervorgehoben. Die Dipole der Helices sind je nach *syn* oder *anti* Konfiguration in rot oder grün dargestellt und zeigen entweder in Richtung der Außenseite (rot) oder Innenseite (grün) des Zylinders.

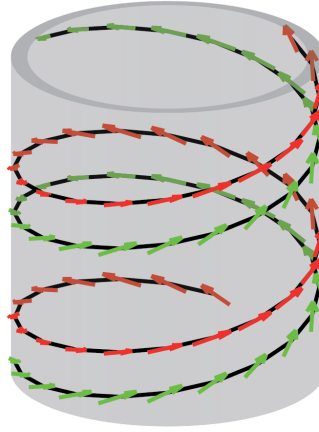


Abbildung 6.2: Schematische Darstellung eines zu einem Zylinder aufgerollten Gitters. Zwei Helices, die entweder eine *syn*- oder *anti*- Konfiguration besitzen sind hervorgehoben.

Der Zylinder ist derart ausgerichtet, dass seine a-Achse parallel zur z-Achse des Laborsystems ausgerichtet ist. Gleichung (6.2) gibt eine Parametrisierung der zentralen Positionen der Dipolmomente des Zylinderaggregates an.

$$\vec{r}(n_1, n_2) = \left(R \cdot \cos(\phi_{n_2}), R \cdot \sin(\phi_{n_2}), n_1 \cdot \frac{a}{2} + n_2 \cdot b_z \right) \quad (6.2)$$

n_1 und n_2 entsprechen dabei den Helices bzw. den Dipolen auf der entsprechenden Helix.

$\phi_{n_2} = n_2 \cdot \phi$, $\phi = \frac{2\pi}{N_2}$, und b_z ist die Projektion von b auf die lange Achse des Zylinderaggregates (z-Achse). N_2 ist die Anzahl der Dipole die sich auf einer Helix befinden, die um 360° gewunden ist.

Die Ausrichtung jedes Dipols ist abhängig von seiner Position auf dem Zylinder und ist durch Gleichung (6.3) gegeben.

$$\vec{\mu}(n_1, n_2) = \mu \cdot (-\sin(\beta) \cdot \sin(\phi_{n_2} - \alpha(n_1)), \sin(\beta) \cdot \cos(\phi_{n_2} - \alpha(n_1)), \cos(\beta)) \quad (6.3)$$

Hierbei gibt μ die Dipolstärke der einzelnen Dipole, β den Winkel zwischen den Dipolen und der langen Achse des Zylinder und $\alpha(n_1)$ den Winkel zwischen den Dipolen und der Tangente der Zylinderoberfläche an. Aufgrund der *syn-anti* Konfiguration zeigen Dipole von übereinander liegenden Helices abwechselnd zur Innen- oder Außenseite des Zylinders. Um dies zu realisieren gilt für $\alpha(n_1) = \alpha_0 \cdot (-1)^{n_1}$ mit $\alpha_0 = 4^\circ$. Durch die zuvor beschriebenen Randbedingungen ist die Ausdehnung des Zylinders in die x- und y-Richtungen nicht willkürlich wählbar. Die Länge jedes Zylinders ist in allen nachfolgenden Fällen auf 50 nm festgelegt.

Die Durchmesser der nachfolgend simulierten Zylinderaggregate sind $\varnothing_1 = 5,32$ nm und $\varnothing_2 = 9,28$ nm und wurden so gewählt, dass bei konzentrischer Anordnung der einzelwandigen Zylinder ein Abstand von 1,98 nm zwischen dem inneren und äußeren Zylinder liegt, der dem aus Referenz [110] annähernd gleicht.

6.2.1 Zylinderaggregate mit einem Durchmesser von 5,32 nm

Die erste simulierte Struktur ist ein einzelwandiger Zylinder mit einem Durchmesser von $\varnothing_1 = 5,32$ nm. Wie zuvor beschrieben, lassen sich über die Positionierung und Ausrichtung der Dipolmomente auf der Zylinderoberfläche die Wechselwirkungen zwischen allen Dipolen

berechnen. Über die Diagonalisierung der Wechselwirkungsmatrix erhält man die Eigenenergien E_k (Energien der Exzitonzustände), sowie ihre zugehörigen Übergangsdipolmomente $\vec{\mu}_k$ und Oszillatorenstärke $|\vec{\mu}_k|^2$. Trägt man die Oszillatorenstärke der Exzitonzustände in Abhängigkeit ihrer Energien auf, erhält man das in Abbildung 6.3 dargestellte Stickspektrum.

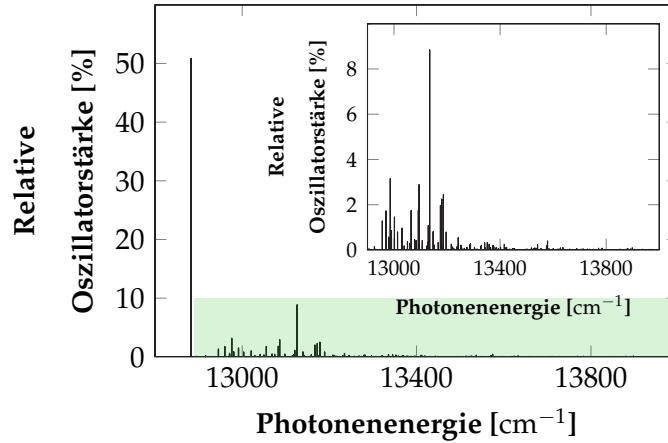


Abbildung 6.3: Stickspektrum eines Zylinders mit einem Durchmesser von $\varnothing_1 = 5,32$ nm. Der eingefügte Graph zeigt eine ausgedehnte Ansicht des in grün hinterlegten Bereichs.

Es ist ersichtlich, dass der energetisch niedrigste Zustand ($12\,883\text{ cm}^{-1}$) gleichzeitig mit 51 % den größten Anteil der Oszillatorenstärke besitzt. Die restlichen Zustände besitzen im Vergleich dazu einen signifikant niedrigeren Anteil der Oszillatorenstärke. Der Exzitonzustand der mit ungefähr 9 % den zweitgrößten Anteil der Oszillatorenstärke besitzt, ist bei einer Energie von $13\,126\text{ cm}^{-1}$ lokalisiert. Der in diesem Abschnitt berechnete Zylinder weist 13 Zustände auf, die jeweils mehr als 1 % (einschließlich der beiden bereits genannten) und 183 Zustände (einschließlich der 13 bereits genannten), die mehr als 0,01 % der gesamten Oszillatorenstärke besitzen. Der relative Anteil an der Gesamtozillatorenstärke der 13 und 183 Zustände summiert sich auf 81 % bzw. 99,4 %. Generell enthalten relativ wenige exzitonische Zustände einen Großteil der Oszillatorenstärke. Zur Veranschaulichung der verbleibenden Zustände, die nur einen geringen Anteil der Oszillatorenstärke tragen ist der in Abbildung 6.3 grün hinterlegte Bereich in der eingefügten Grafik nochmals vergrößert

dargestellt.

Intensitätsmodulation

Um experimentelle Umstände, bezüglich der Rotation der Anregungspolarisation der polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren und der Beobachtungsebene, bei den Simulationen widerzuspiegeln werden die exzitonischen Übergangsdipolmomente in die xz -Ebene des Laborsystems projiziert. Die Hauptachse des Zylinders ist dabei parallel zur z -Achse des Laborsystems orientiert. Die y -Achse repräsentiert in diesem Fall die optische Achse. Ein Beispiel für zwei exzitonische Übergangsdipolmomente ist in Abbildung 6.4(a) dargestellt.

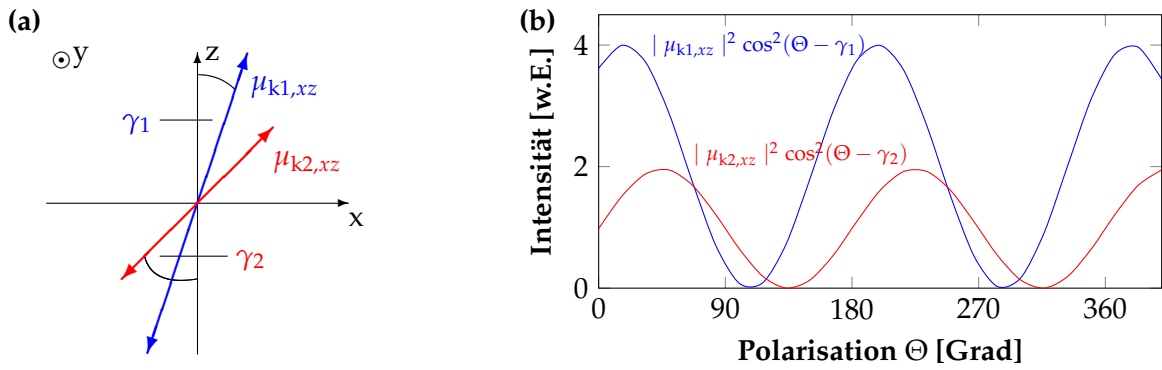


Abbildung 6.4: (a) Projektionen der Übergangsdipolmomente $\vec{\mu}_{k1}$ und $\vec{\mu}_{k2}$ in die Beobachtungsebene (xz -Ebene). Die y -Achse repräsentiert die optische Achse unter experimentellen Bedingungen. γ_1 und γ_2 sind die Winkel zwischen den Übergangsdipolmomenten und der Hauptachse des Zylinders. (b) Intensitätsmodulationen, gleichbedeutend mit der Intensitätsabhängigkeit von der Polarisation der Anregungsstrahlung unter experimentellen Bedingungen. γ_1 und γ_2 repräsentieren die Phasen der \cos^2 -Funktionen unter denen die exzitonischen Übergangsdipolmomente parallel zur Polarisation der Anregungsstrahlung ausgerichtet sind.

Es wurden die Winkel γ_i zwischen der z -Achse (Hauptachse des Zylinders) und allen in die xz -Ebene projizierten exzitonischen Übergangsdipolmomenten $\mu_{ki,xz}$ bestimmt. Die Winkel γ_i stellen dabei die Nullphasenwinkel einer \cos^2 -förmigen Intensitätsmodulationen der zugehörigen projizierten exzitonischen Übergangsdipolmomente dar (vgl. Abbildung 6.4(b)).

Dressing der Stickspektren

Um einen Vergleich zwischen simulierten und experimentell aufgenommenen Spektren zu ermöglichen, ist es notwendig die Stickspektren mit einer gewissen Breite zu versehen. Es wurden dazu gaußförmige Profile mit Linienbreiten (FWHM) von 10 cm^{-1} , 50 cm^{-1} , 100 cm^{-1} und 200 cm^{-1} angenommen. Die resultierenden Spektren sind in Abbildung 6.5 dargestellt.

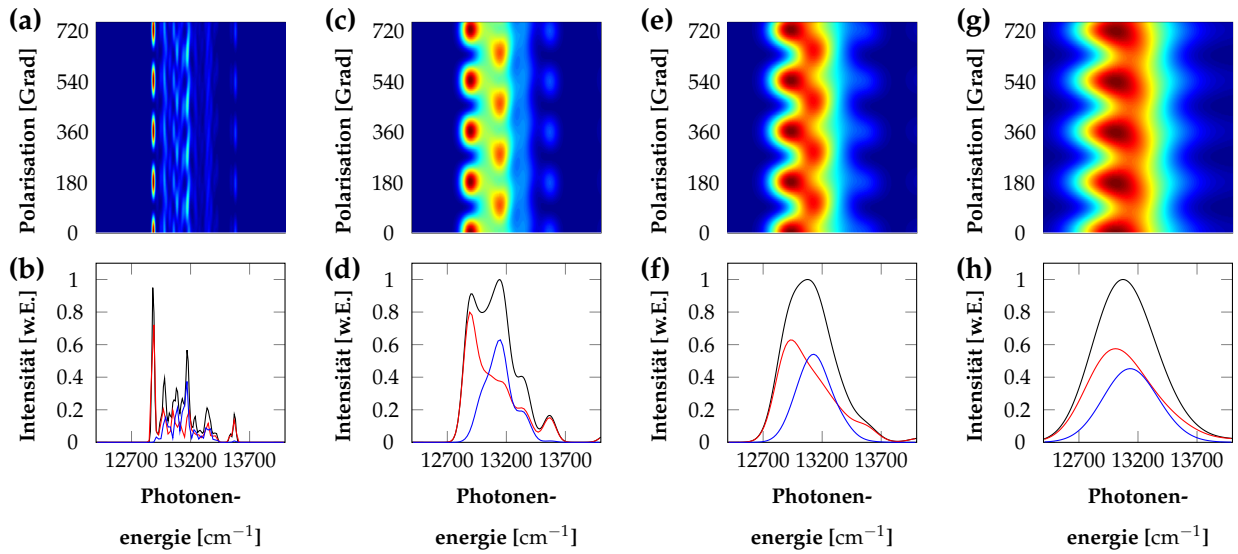


Abbildung 6.5: (a,c,e,g) Zweidimensionale Darstellung der polarisationsaufgelösten Spektren eines Zylinders mit dem Durchmesser $\varnothing_1 = 5,32\text{ nm}$. Die Auflösung der Polarisation beträgt 3° . (b,d,f,h) Zugehöriges Durchschnittsspektrum (schwarz) und die PAS der globalen Analyse (rot, blau). Die Dressingbreiten der Stickspektren sind (von links nach rechts) 10 cm^{-1} , 50 cm^{-1} , 100 cm^{-1} und 200 cm^{-1} .

Die Abbildungen 6.5(a,c,e,g) zeigen eine zweidimensionale Darstellung der polarisationsaufgelösten Spektren unterschiedlicher Linienbreiten. Die horizontale Achse ist dabei der Photonenenergie zugeschrieben, die vertikale Achse dem Winkel der \cos^2 -Funktion und entspricht damit der Polarisation der Anregungsstrahlung im experimentellen Fall. Die Intensität ist farbcodiert. Die Abbildungen 6.5(b,d,f,h) zeigen die zugehörigen Durchschnittsspektren (schwarz) und die polarisations-assoziierten Spektren (PAS), die aus der globalen Analyse der polarisationsaufgelösten Fluoreszenz-Anregungsspektren erhalten werden (vgl.

Kapitel 5.3).

Abbildung 6.5 verdeutlicht die Verbreiterung der exzitonischen Übergänge. Im ersten Beispiel können individuelle Übergänge mit einer Dressingbreite von 10 cm^{-1} verhältnismäßig gut voneinander unterschieden werden. Dies wird ebenso in den nieder- (rot) und hochenergetischen (blau) PAS widergespiegelt. Durch die Dressingbreite von 200 cm^{-1} im letzten Beispiel entsteht ein großer energetischer Überlapp zwischen den Übergängen, was zu einer breiten Bande ohne separierte Übergänge führt. Das polarisationsaufgelöste Spektrum weist ebenfalls keine besonderen Merkmale bezüglich separierter Übergänge auf. Jedoch bleibt eine Abhängigkeit der Intensität von der Polarisation bestehen, welche des weiteren augenscheinlich an unterschiedlichen spektralen Positionen verschiedene Nullphasenwinkel besitzt. Durch visuelle Begutachtung wurde festgestellt, dass simulierte Spektren mit einem Dressing von 200 cm^{-1} die experimentellen Spektren am besten reproduzieren.

Diagonale Unordnung

Es wurden 1000 polarisationsaufgelöste Spektren simuliert, bei denen eine Dressingbreite von 200 cm^{-1} und eine gaußverteilte, diagonale Unordnung ΔE_n mit einer Standardabweichung von $\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$ einbezogen wurde (vgl. Gleichung (6.1)). Durch die Einführung der diagonalen Unordnung ändert sich die Gestalt der polarisationsaufgelösten Spektren dramatisch, wobei, im Gegensatz dazu, die zugehörigen Durchschnittsspektren kaum voneinander zu unterscheiden sind. Vier willkürlich ausgewählte Beispiele werden in Abbildung 6.6 gezeigt.

Die PAS (rot, blau) der zugehörigen polarisationsaufgelösten Spektren unterscheiden sich ebenfalls. Die nieder- (rot) und hochenergetischen (blau) PAS der Beispiele (a/b) und (g/h) weisen annähernd gleiche Intensitäten auf, wohingegen die niederenergetischen PAS der Beispiele (c/d) und (e/f) einen deutlich höheren Beitrag zum Gesamtspektrum beitragen als die hochenergetischen PAS. Die Phasendifferenz δ liegt bei allen Spektren bei ungefähr 90° . Die Verteilungen der spektralen Schwerpunkte der Durchschnittsspektren und der PAS,

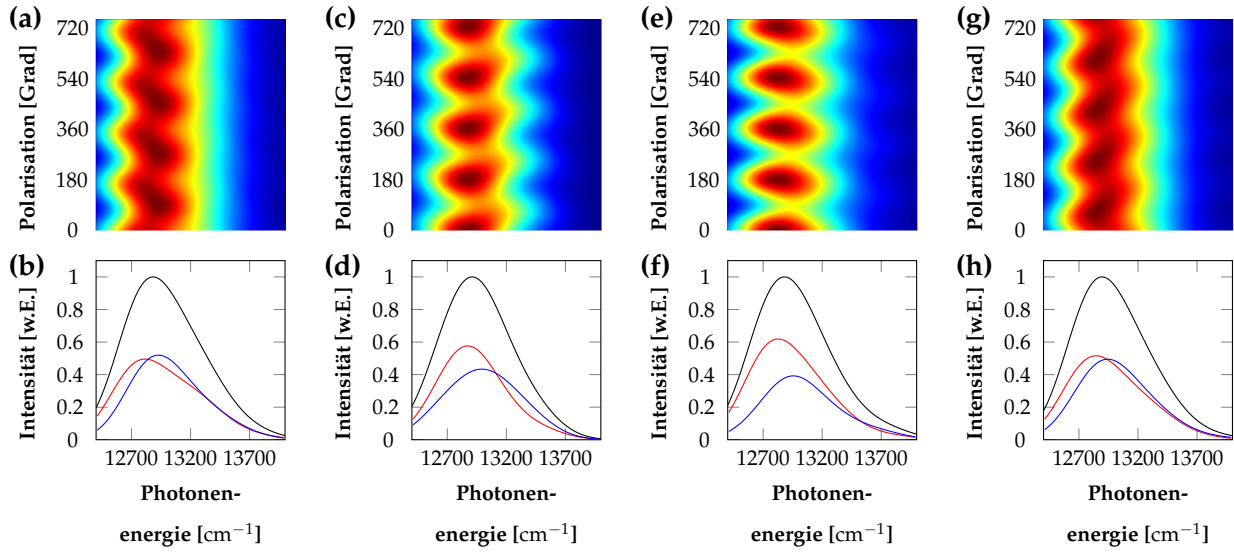


Abbildung 6.6: Beispielspektren mit einer Dressingbreite von 200 cm^{-1} und einer gaußverteilten diagonalen Unordnung mit einer Standardabweichung von $\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$. (a,c,e,g) Zweidimensionale Darstellung der polarisationsaufgelösten Spektren eines Zylinders mit dem Durchmesser $\varnothing_1 = 5,32 \text{ nm}$. Die Auflösung der Polarisation beträgt 3° . (b,d,f,h) Zugehörige Durchschnittsspektren (schwarz) und PAS der globalen Analyse (rot, blau).

sowie der Energetische Unterschied der PAS und ihre Phasendifferenz δ sind in Abbildung 6.7 dargestellt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen der spektralen Schwerpunkte sind $(13041 \pm 41) \text{ cm}^{-1}$ (schwarz), $(13019 \pm 16) \text{ cm}^{-1}$ (rot) und $(13065 \pm 16) \text{ cm}^{-1}$ (blau), die der spektralen Differenz bzw. des Phasenwinkels δ der PAS $(46 \pm 24) \text{ cm}^{-1}$ bzw. $(88,0 \pm 1,0)^\circ$.

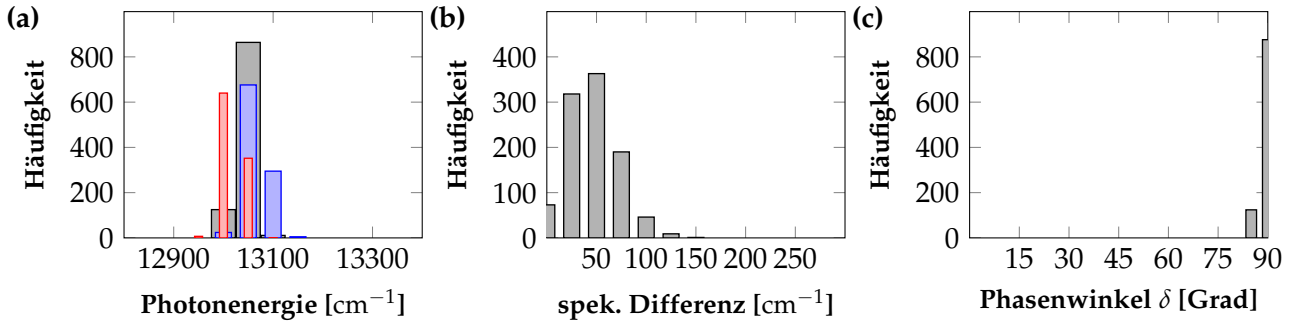


Abbildung 6.7: Verteilungen der Ergebnisse aus der globalen Analyse der simulierten Spektren des Zylinders mit einem Durchmesser von $\varnothing_1 = 5,32$ nm. (a) Spektrale Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums (schwarz) und der nieder- und hochenergetischen PAS (rot, blau). (b) Spektrale Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS. (c) Phasenwinkel δ zwischen den nieder- und hochenergetischen PAS.

6.2.2 Zylinderaggregate mit einem Durchmesser von 9,28 nm

Auf die Gleiche Art und Weise wie im vorangegangenen Abschnitt wurde ein Zylinder mit einem Durchmesser von $\varnothing_2 = 9,28$ nm und einer Länge von 50 nm behandelt. In Abbildung 6.8 sind die Spektren in Abhängigkeit der Dressingbreite dargestellt.

Die abgebildeten Spektren sind im Vergleich zu denen des kleineren Zylinders ($\varnothing_1 = 5,32$ nm) schmäler und die Energien der Exzitonzustände sind zu geringeren Energien verschoben. Ein Zusammenschluss einzelner Übergänge mit Erhöhung der Dressingbreite zu breiten Banden ist, wie in Abbildung 6.5, ebenfalls zu erkennen.

In Abbildung 6.9 sind vier von 1000 simulierten Spektren, mit einem Dressing von 200 cm^{-1} und diagonalen Unordnung ΔE_n ($\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$) dargestellt.

Die vier Beispielspektren verdeutlichen den Einfluss der diagonalen Unordnung auf die energetische Struktur der Zylinderaggregate. Obwohl zwischen den Durchschnittsspektren (Abbildungen 6.9(b,d,f,h), schwarz) ein visueller Unterschied schwerlich erkennbar ist, unterscheiden die polarisationsaufgelösten Spektren sich deutlich voneinander. Die globale Analyse der, unter den genannten Parametern, 1000 simulierten Spektren liefert für die spektralen Schwerpunkte der Durchschnittsspektren (schwarz), sowie der PAS (rot, blau) Mit-

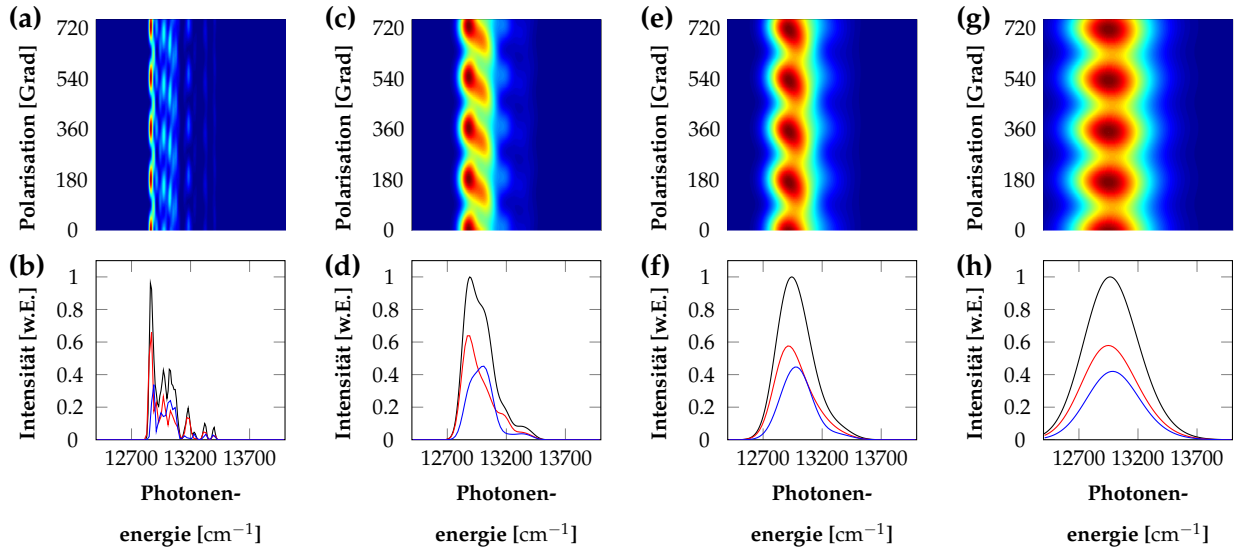


Abbildung 6.8: (a,c,e,g) Zweidimensionale Darstellung der polarisationsaufgelösten Spektren eines Zylinders mit dem Durchmesser $\varnothing_2 = 9,28$ nm. Die Auflösung der Polarisation beträgt 3° . (b,d,f,h) Zugehöriges Durchschnittsspektrum (schwarz) und die PAS der globalen Analyse (rot, blau). Die Dressingbreiten der Stickspektren sind (von links nach rechts) 10 cm^{-1} , 50 cm^{-1} , 100 cm^{-1} und 200 cm^{-1} .

telwerte und Standardabweichungen von $(12\,955 \pm 11) \text{ cm}^{-1}$ (schwarz), $(12\,950 \pm 13) \text{ cm}^{-1}$ (rot) und $(12\,975 \pm 13) \text{ cm}^{-1}$ (blau). Die der Differenz der spektralen Schwerpunkte und des Phasenwinkels δ der PAS sind $(25 \pm 14) \text{ cm}^{-1}$ bzw. $(88,0 \pm 1,0)^\circ$. Ihre Verteilungen sind in Abbildung 6.10 dargestellt.

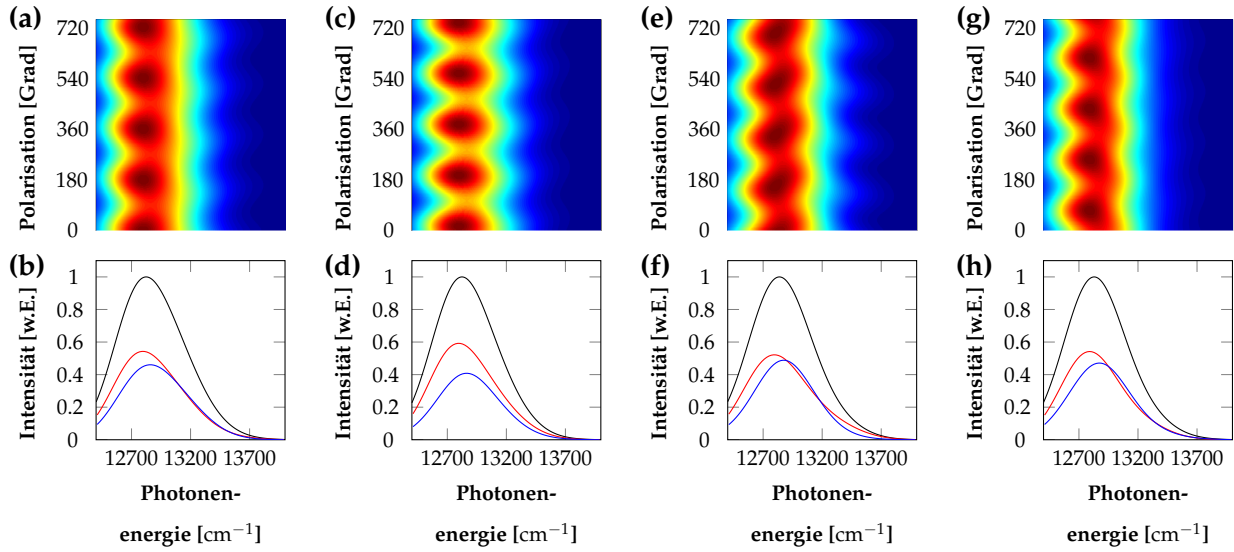


Abbildung 6.9: Beispielspektren mit einer Dressingbreite von 200 cm^{-1} und einer gaußverteilten diagonalen Unordnung mit einer Standardabweichung von $\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$. (a,c,e,g) Zweidimensionale Darstellung der polarisationsaufgelösten Spektren eines Zylinders mit dem Durchmesser $\varnothing_2 = 9,28 \text{ nm}$. Die Auflösung der Polarisation beträgt 3° . (b,d,f,h) Zugehörige Durchschnittsspektren (schwarz) und PAS der globalen Analyse (rot, blau).

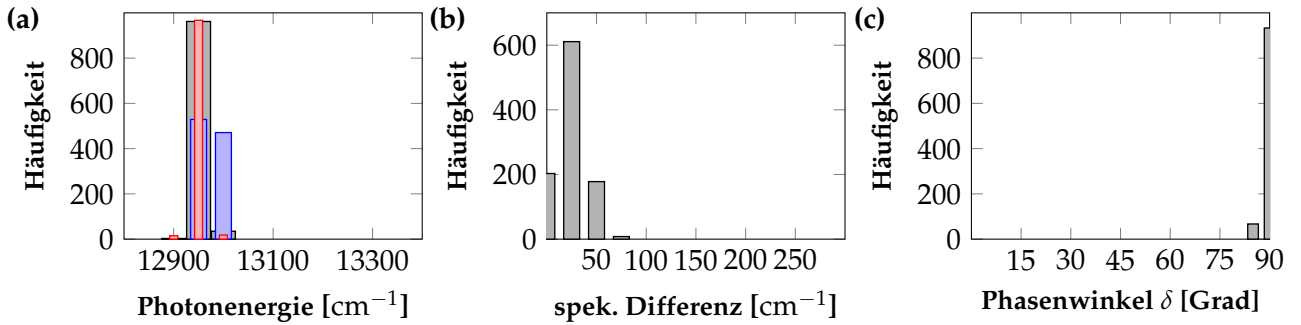


Abbildung 6.10: Verteilungen der Ergebnisse aus der globalen Analyse der simulierten Spektren des Zylinders mit einem Durchmesser von $\varnothing_1 = 9,28 \text{ nm}$. (a) Spektrale Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums (schwarz) und der nieder- und hochenergetischen PAS (rot, blau). (b) Spektrale Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS. (c) Phasenwinkel δ zwischen den nieder- und hochenergetischen PAS.

6.2.3 Doppelwandige Zylinderaggregate

Es wird angenommen, dass aus dem in einem Chlorosom enthaltenen BChl Molekülen, abhängig von der Spezies, Zylinderaggregate gebildet werden, die konzentrisch, mit einem

Abstand von 2,1 nm angeordnet sind (vgl. Kapitel 2.4). Das simpelste dieser Modelle ist ein doppelwandiges Aggregat, welches im folgenden Abschnitt betrachtet wird. Für supramolekulare Farbstoffröhren wurde durch den Vergleich oxidierten und nicht oxidierten Proben gezeigt, dass die inneren und äußeren Zylinder als unabhängig voneinander betrachtet werden können [163]. Im Falle der Farbstoffnanoröhren betrug der Abstand zwischen dem inneren und äußeren Zylinder ungefähr 4 nm und ist damit doppelt so groß wie derjenige, der für chlorosomale BChl Molekülaggregate gefunden wurde [110]. Aus diesem Grund können Wechselwirkungen zwischen dem inneren und äußeren Zylinder nicht generell ausgeschlossen werden, weshalb der doppelwandige Zylinder sowohl als ganzheitlich simuliertes Aggregat als auch als zusammengesetztes Aggregat untersucht wird. Unter den anfänglich beschriebenen Randbedingungen eines geschlossenen zylindrischen Aggregates ist es nicht möglich den Abstand von 2,1 nm zwischen den inneren und äußeren Zylindern genau zu reproduzieren. Im Rahmen der Simulationen weicht dieser mit 1,98 nm um 0,12 nm zumutbar von den experimentellen Ergebnissen ab.

Vergleich zwischen ganzheitlichen und zusammengesetzten Zylinderaggregaten

Die Abbildungen 6.11(a,b) zeigen das polarisationsaufgelöste und das zugehörige Durchschnittsspektrum eines ganzheitlich simulierten doppelwandigen Zylinders. Zum Vergleich sind in den Abbildungen 6.11(c,d) die Summenspektren dargestellt. Um die Summenspektren zu erhalten wurden die Intensitäten der einzelwandigen Aggregate mit der Anzahl der enthaltenen Dipole gewichtet (1536 bei dem kleinere und 2688 bei dem größeren Zylinder). Sowohl das ganzheitliche als auch die einzelwandigen Aggregate wurden ohne diagonale Unordnung und mit einer Dressingbreite von 10 cm^{-1} simuliert. Um den Unterschied zwischen dem ganzheitlich simulierten und dem aus den individuell simulierten und zusammengesetzten Aggregat zu verdeutlichen sind die Differenzspektren in den Abbildungen 6.11(e,f) dargestellt.

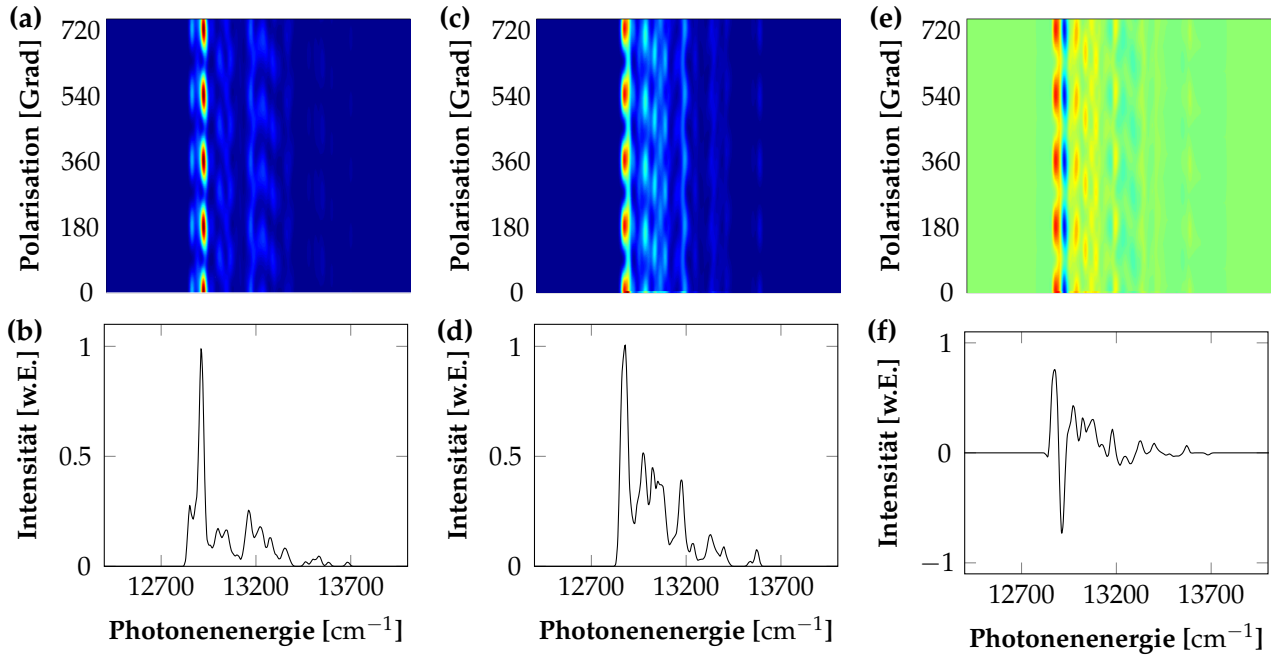


Abbildung 6.11: (a,b) Polarisationsaufgelöstes und Durchschnittsspektrum eines ganzheitlich simulierten doppelwandigen Zylinders. (c,d) Polarisationsaufgelöstes und Durchschnittsspektrum der Komposition aus den separat simulierten einzelwandigen Zylindern. (e,f) Differenzspektren aus (a,c) und (b,d). Die Stickspektren wurden mit einer Linienbreite von 10 cm^{-1} gedresst.

Es ist klar ersichtlich, dass sich die Spektren, welche auf die beschriebenen, unterschiedlichen Arten erzeugt wurden, unterscheiden. In den Abbildungen 6.11(a,b) ist zu erkennen, dass der energetisch niedrigste Zustand, im Gegensatz zu den Spektren in den Abbildungen 6.11(c,d), nicht gleichzeitig den größten Teil der Oszillatorenstärke besitzt. Es existiert neben dem Zustand mit der meisten Oszillatorenstärke, der an einer spektralen Position von 12912 cm^{-1} lokalisiert ist, ein weiterer, zu niedrigeren Energien verschobener Zustand (12852 cm^{-1}). Qualitativ wurde ein ähnliches Ergebnis durch Lochbrennexperimente an Chlorosomen der Spezies *Chlorobium limicola* und *Chloroflexus aurantiacus* erzielt [164, 165]. Im Fall des Summenspektrums liegt der energetisch niedrigste Zustand bei 12879 cm^{-1} und besitzt gleichzeitig den größten Anteil der Oszillatorenstärke.

Auf die Gleiche Art und Weise wurde mit einer Dressingbreite von 200 cm^{-1} verfahren.

Die entsprechenden Spektren sind in Abbildung 6.12 dargestellt. Obwohl die auf die beiden verschiedenen Arten enthaltenen polarisationsaufgelösten Spektren Unterschiede aufweisen (Abbildungen 6.12(a,c)), sind die zugehörigen Durchschnittsspektren augenscheinlich nicht voneinander zu unterscheiden (Abbildungen 6.12(b,d)). Die Differenzspektren zeigen einen maximalen Unterschied von $\pm 6\%$. Aufgrund dieser Ergebnisse und der Breite der experimentell gewonnen Spektren ist es nicht möglich eine Aussage zu treffen, ob in einem Chlorosom enthaltene BChl Molekülaggregate einzel- oder mehrwandige zylindrische Strukturen ausbilden.

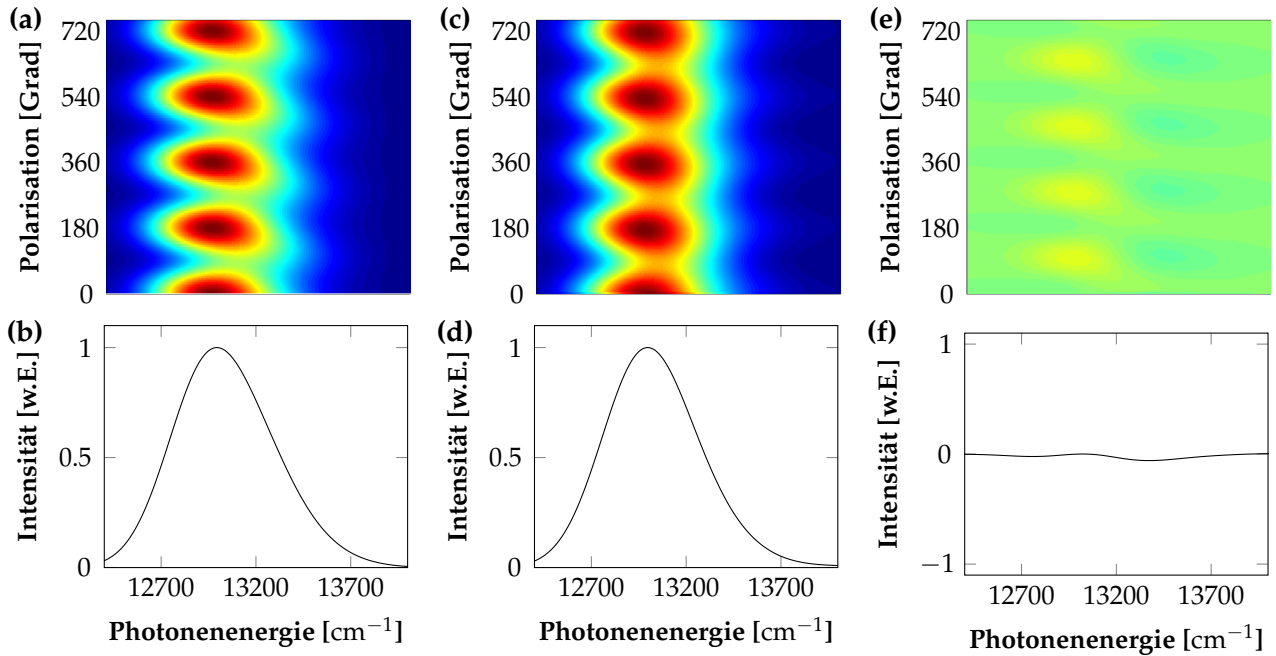


Abbildung 6.12: (a,b) Polarisationsaufgelöstes und Durchschnittsspektrum eines ganzheitlich simulierten doppelwandigen Zylinders. (c,d) Polarisationsaufgelöstes und Durchschnittsspektrum der Komposition aus den separat simulierten einzelwandigen Zylindern. (e,f) Differenzspektren aus (a,c) und (b,d). Die Stickspektren wurden mit einer Linienbreite von 200 cm^{-1} gedresst.

Globale Analyse ganzheitlich simulierter Doppelwandzylinder

In Anbetracht der Tatsachen, dass, wie aus Abbildung 6.11 ersichtlich ist, eine Wechselwirkung zwischen dem inneren und äußeren Zylinder nicht ausgeschlossen werden kann und die Einflüsse der Linienverbreiterungsmechanismen nicht bekannt sind (Abbildung 6.12) wurden 1000 doppelwandige Zylinderaggregate mit einer gaußverteilten diagonalen Unordnung ΔE_n ($\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$) simuliert und mittels der zuvor verwendeten globalen Analyse ausgewertet. Abbildung 6.13 zeigt die polarisationsaufgelösten Spektren und die dazugehörigen Durchschnittsspektren, sowie die durch die globale Analyse erhaltenen PAS. In den Abbildungen 6.13(a,b) bzw. (c,d) wurden die Simulationen ohne diagonale Unordnung und einem Stickdressing von 10 cm^{-1} bzw. 200 cm^{-1} durchgeführt. (e,f) und (g,h) zeigen zwei Beispiele der 1000 Simulationen mit diagonalen Unordnung und einer Dressingbreite von 200 cm^{-1} .

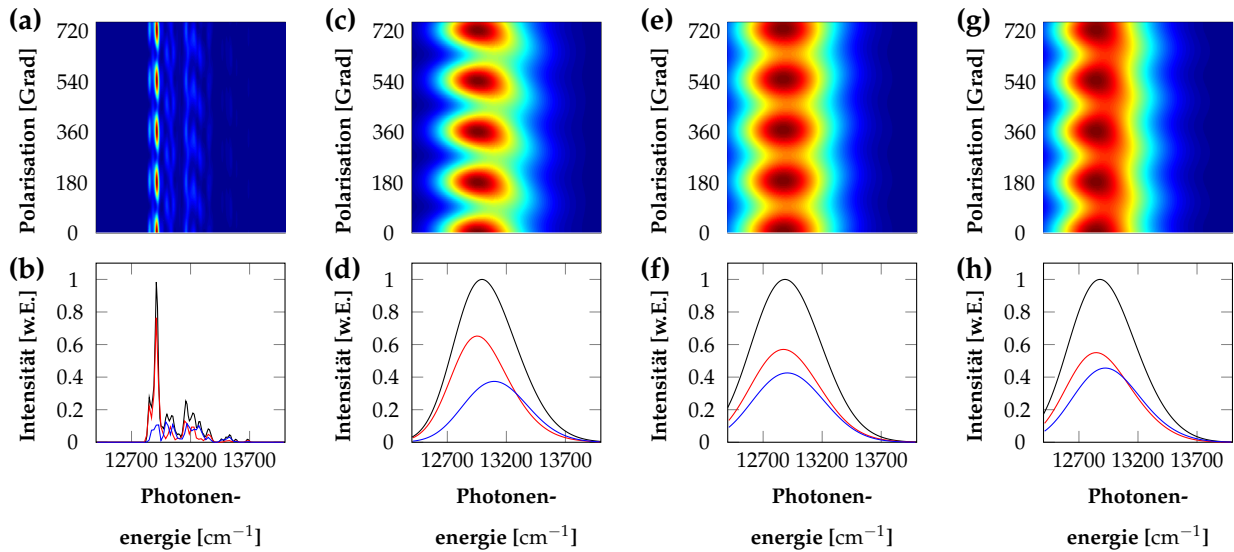


Abbildung 6.13: (a,c,e,g) Zweidimensionale Darstellung der polarisationsaufgelösten Spektren eines doppelwandigen Zylinders. Die Auflösung der Polarisation beträgt 3° . (b,d,f,h) Zugehöriges Durchschnittsspektrum (schwarz) und die PAS der globalen Analyse (rot, blau). Die Dressingbreiten der Stickspektren sind 10 cm^{-1} in (a,b) und 200 cm^{-1} in (c,d), (e,f) und (g,h). In (a,b) und (c,d) wurde keine diagonale Unordnung angelegt, wohingegen die in (e,f) und (g,h) gaußverteilt ist und eine Standardabweichung von $\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$ hat.

Sowohl die Verteilungen der spektralen Schwerpunkte der Durchschnittsspektren (schwarz), sowie der PAS (rot, blau), als auch die energetische Differenz der spektralen Schwerpunkte der nieder- und hochenergetischen PAS und ihr Phasenwinkel δ sind in Abbildung 6.14 dargestellt. Die Mittelwerte und Standardabweichungen sind (in der oben genannten Reihenfolge) $(12\,903 \pm 11) \text{ cm}^{-1}$ (schwarz), $(12\,886 \pm 13) \text{ cm}^{-1}$ (rot), $(12\,924 \pm 15) \text{ cm}^{-1}$ (blau), $(38 \pm 18) \text{ cm}^{-1}$ und $(89,0 \pm 1,0)^\circ$.

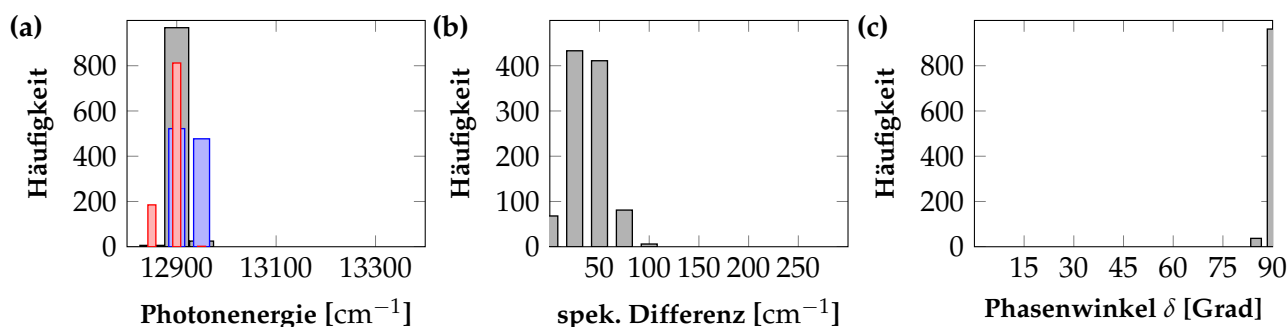


Abbildung 6.14: Verteilungen der Ergebnisse aus der globalen Analyse der ganzheitlich simulierten Spektren doppelwandiger Zylinderaggregate. (a) Spektrale Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums (schwarz) und der nieder- und hochenergetischen PAS (rot, blau). (b) Spektrale Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS. (c) Phasenwinkel δ zwischen den nieder- und hochenergetischen PAS.

6.3 Dreidimensionale Spiralen-Aggregate

Eine weitere Annahme für in Chlorosomen enthaltene BChl Molekülaggregate sind dreidimensionale Spiralen. Als Grundlage zur Anordnung der BChl Moleküle bzw. der Dipole wurde die zuvor beschriebene Einheitszelle herangezogen (vgl. Abbildung 6.1). Im Prinzip wird zur Erzeugung von dreidimensionalen Spiralenaggregaten eine zweidimensionale, planare Lamelle aus der Einheitszelle zusammengesetzt, welche anschließend um die a-Achse (der Einheitszelle) mit kontinuierlich ansteigendem Krümmungsradius aufgerollt wird. Wie auch im vorangegangenen Abschnitt wurden zwei Strukturen unterschiedlicher Größe simuliert. Zwei planare Lamellen mit Größen von $50 \text{ nm} \times 19 \text{ nm}$ und $50 \text{ nm} \times 29 \text{ nm}$ wurden

dazu unter gleichen Bedingungen aufgerollt, woraus dreidimensionale Spiralenaggregate mit Durchmessern von $\varnothing_1 = 6,57 \text{ nm}$ und $\varnothing_2 = 8,66 \text{ nm}$ erzeugt wurden. Die Länge der Aggregate (in Richtung der z-Achse) wurde auf 50 nm festgelegt. Die Grundlage für die spiralförmige Struktur ist eine Wurzelschnecke (eng.: Theodorous spiral) [166]. Die Wurzelschnecke gewährleistet, dass bei ansteigendem Krümmungsradius die Abstände zwischen angrenzenden Dipolen gleich bleiben, so dass die Vorgaben durch die Einheitszelle eingehalten werden können. Die Positionen der Dipole innerhalb der dreidimensionalen Spiralenaggregate sind durch Gleichung (6.4) definiert.

$$\vec{r}(n_1, n_2) = \left(\sqrt{n_2} \cdot b_x, \phi_{n_2}, n_1 \cdot \frac{a}{2} + n_2 \cdot b_z \right) \quad (6.4)$$

Die Helices und Dipole auf den zugehörigen Helices werden durch n_1 und n_2 repräsentiert. b_x und b_z sind die Projektionen von b auf die x- bzw. die z-Achse. $\phi_{n_2} = \arctan\left(\frac{b_x}{r_{n_2}}\right) + \phi_{n_2-1}$ gibt den Winkel (ausgehend vom Zentrum des Aggregates) zwischen benachbarten Dipolen einer Helix an.

Die Dipolausrichtung ist, wie auch bei den Zylinderaggregaten, positionsabhängig und wird durch Gleichung (6.5) beschrieben.

$$\vec{\mu}(n_1, n_2) = \mu \cdot (-\sin(\beta) \cdot \sin(\phi_{n_2} - \alpha(n_1)), \sin(\beta) \cdot \cos(\phi_{n_2} - \alpha(n_1)), \cos(\beta)) \quad (6.5)$$

μ steht dabei für die Dipolstärke, β für den Winkel zwischen dem Dipol und der z-Achse und $\alpha(n_1)$ für den Winkel zwischen dem Dipol und der Tangente der Spiraloberfläche. Genau wie die zylindrischen Strukturen besitzen die dreidimensionalen Spiralenaggregate eine *syn-anti* Konfiguration, sodass die Dipole benachbarter Helices entweder zur Innen- oder Außenseite des Aggregates zeigen. Um dies zu realisieren gilt für $\alpha(n_1) = \alpha_0 \cdot (-1)^{n_1}$ mit $\alpha_0 = 4^\circ$.

Abbildung 6.15 zeigt polarisationsaufgelöste und die dazugehörigen Durchschnittsspektren, sowie die durch die globale Analyse erhaltenen PAS des simulierten dreidimensionalen Spiralenaggregates mit einem Durchmesser von $\varnothing_1 = 6,57$ nm. In den Abbildungen 6.15(a,b) bzw. (c,d) wurden die Simulationen ohne diagonale Unordnung und einem Stickdressing von 10 cm^{-1} bzw. 200 cm^{-1} durchgeführt. (e,f) und (g,h) zeigen zwei Beispiele der 1000 Simulationen mit diagonaler Unordnung und einer Dressingbreite von 200 cm^{-1} . Nach dem Gleichen Aufbau sind in Abbildung 6.16 Ergebnisse der Simulationen des Spiralenaggregates mit einem Durchmesser von $\varnothing_2 = 8,66$ nm dargestellt.

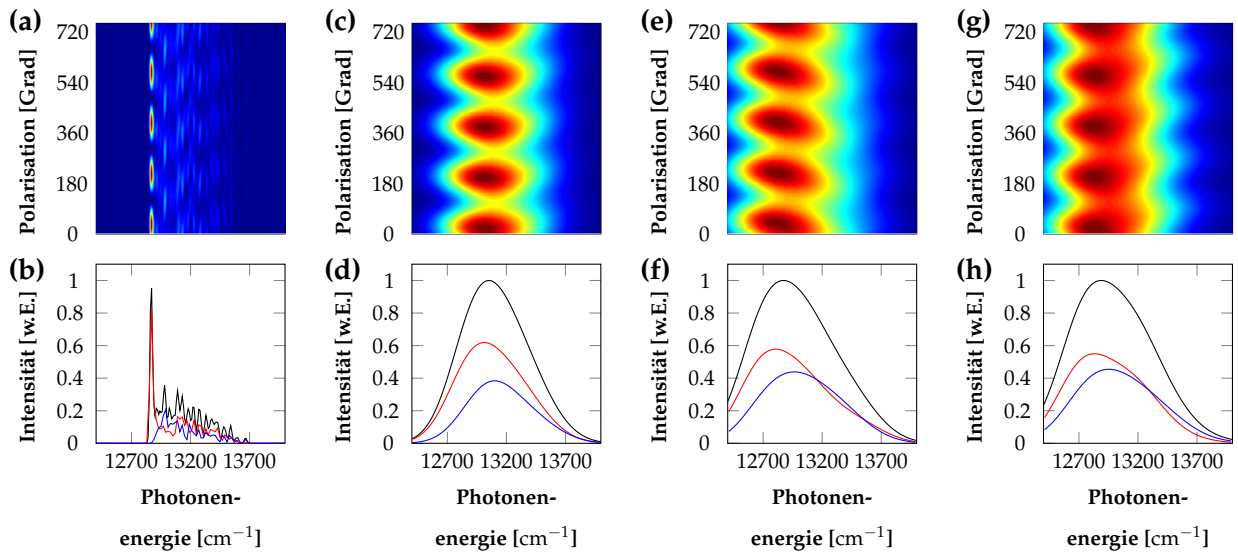


Abbildung 6.15: (a,c,e,g) Zweidimensionale Darstellung der polarisationsaufgelösten Spektren einer dreidimensionalen Spirale des Durchmessers $\varnothing_1 = 6,57$ nm. Die Auflösung der Polarisation beträgt 3° . (b,d,f,h) Zugehöriges Durchschnittsspektrum (schwarz) und die PAS der globalen Analyse (rot, blau). Die Dressingbreiten der Stickpektren sind 10 cm^{-1} in (a,b) und 200 cm^{-1} in (c,d), (e,f) und (g,h). In (a,b) und (c,d) wurde keine diagonale Unordnung angelegt, wohingegen die in (e,f) und (g,h) gaußverteilt ist und eine Standardabweichung von $\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$ hat.

Es wurden für Spiralenaggregate beider Durchmesser, wie auch im Fall der Zylinder, jeweils 1000 polarisationsaufgelöste Spektren mit einer gaußverteilten Diagonalen Unordnung ΔE_n ($\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$) simuliert und global analysiert. Die Verteilungen der Größen, die daraus gewonnen wurden sind für das Spiralenaggregat mit einem Durchmesser von $\varnothing_1 = 6,57$ nm

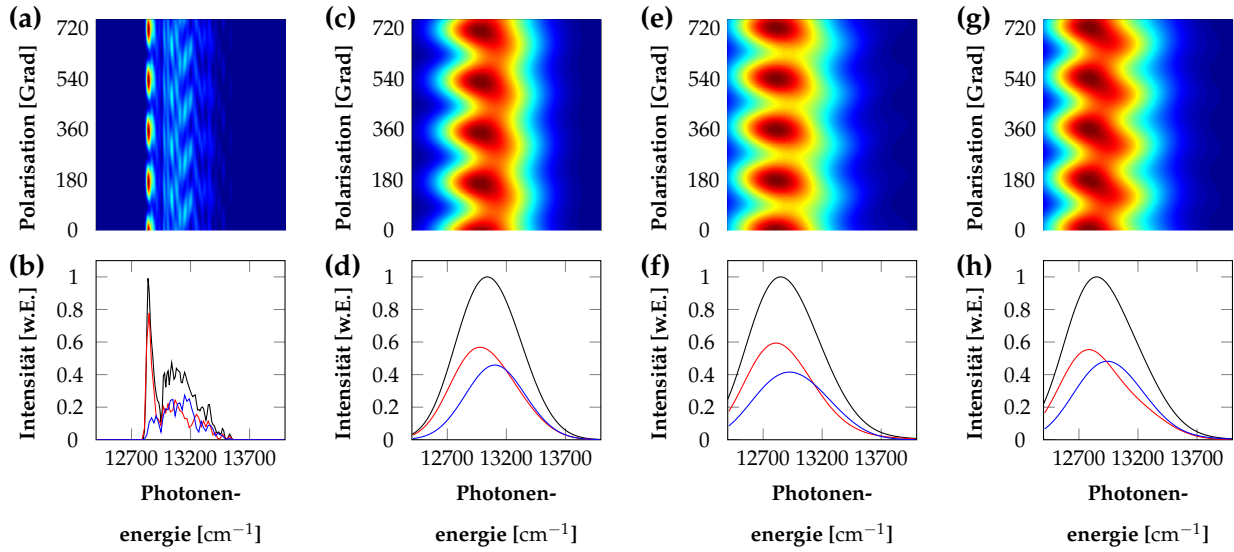


Abbildung 6.16: (a,c,e,g) Zweidimensionale Darstellung der polarisationsaufgelösten Spektren einer dreidimensionalen Spirale des Durchmessers $\varnothing_1 = 8,66$ nm. Die Auflösung der Polarisation beträgt 3° . (b,d,f,h) Zugehöriges Durchschnittsspektrum (schwarz) und die PAS der globalen Analyse (rot, blau). Die Dressingbreiten der Stickspektren sind 10 cm^{-1} in (a,b) und 200 cm^{-1} in (c,d), (e,f) und (g,h). In (a,b) und (c,d) wurde keine diagonale Unordnung angelegt, wohingegen die in (e,f) und (g,h) gaußverteilt ist und eine Standardabweichung von $\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$ hat.

in Abbildung 6.17 und für dasjenige mit einem Durchmesser von $\varnothing_2 = 8,66$ nm in Abbildung 6.18 dargestellt. Die zugehörigen Mittelwerte und Standardabweichungen sind in beiden Fällen der Tabelle 6.1 zu entnehmen.

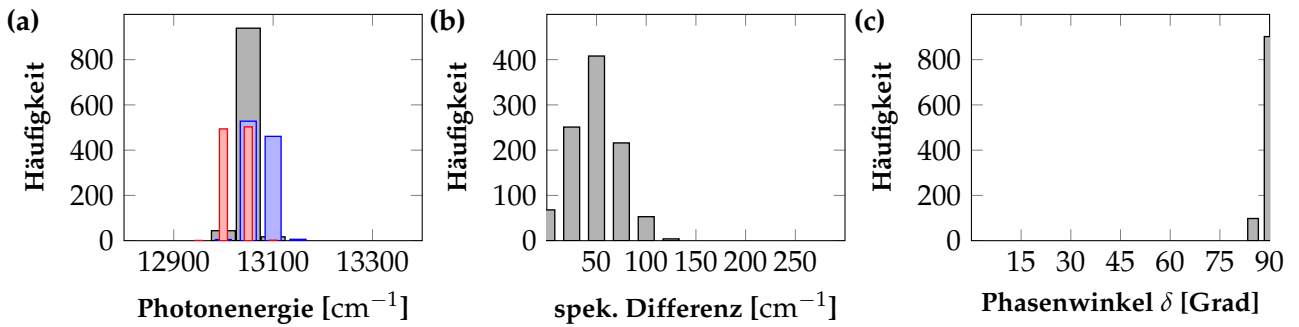


Abbildung 6.17: Verteilungen der Ergebnisse aus der globalen Analyse der simulierten Spektren des dreidimensionalen Spiralenaggregats mit einem Durchmesser von $\varnothing_1 = 6,57$ nm. (a) Spektrale Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums (schwarz) und der nieder- und hochenergetischen PAS (rot, blau). (b) Spektrale Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS. (c) Phasenwinkel δ zwischen den nieder- und hochenergetischen PAS.

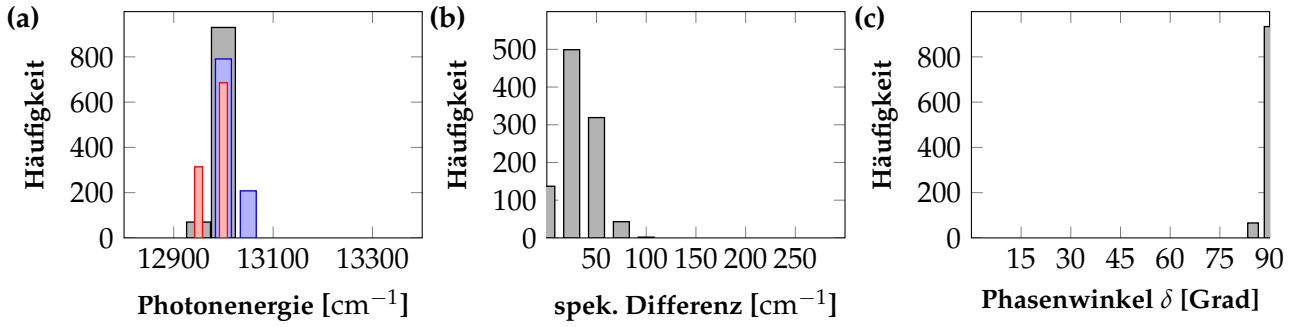


Abbildung 6.18: Verteilungen der Ergebnisse aus der globalen Analyse der simulierten Spektren des dreidimensionalen Spiralenaggregats mit einem Durchmesser von $\varnothing_1 = 8,66$ nm. (a) Spektrale Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums (schwarz) und der nieder- und hochenergetischen PAS (rot, blau). (b) Spektrale Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS. (c) Phasenwinkel δ zwischen den nieder- und hochenergetischen PAS.

	spektraler Schwerpunkt			spektrale Differenz [cm ⁻¹]	Phasenwinkel [Grad]
	Durchschnitt	PAS 1	PAS 2		
	[cm ⁻¹]	[cm ⁻¹]	[cm ⁻¹]		
3d Spirale 1, $\varnothing_1 = 6,57$ nm	$13\,048 \pm 14$	$13\,025 \pm 16$	$13\,074 \pm 19$	48 ± 24	$88,8 \pm 0,9$
3d Spirale 2, $\varnothing_2 = 8,66$ nm	$12\,990 \pm 10$	$12\,981 \pm 12$	$13\,014 \pm 14$	33 ± 17	$89,0 \pm 0,8$

Tabelle 6.1: Mittelwerte und Standardabweichungen der spektralen Schwerpunkte der Durchschnittsspektren, der PAS, der Differenz zwischen den spektralen Schwerpunkten und dem Phasenwinkel der PAS dreidimensionaler spiralförmiger Aggregate .

6.4 Lammellen-Aggregate

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein weiteres Modell eines BChl Molekülaggregates simuliert. Hierbei handelt es sich um eine zweidimensionale, planare Lamelle, die ebenfalls aus der zuvor beschriebenen Einheitszelle konstruiert wurde. Die Ausdehnung der Lamelle beträgt 50 nm in Richtung der z-Achse und 20 nm in Richtung der y-Achse. Die Positionen der Dipole innerhalb des Aggregates sind durch Gleichung (6.6) definiert.

$$\vec{r}(n_1, n_2) = \left(0, n_1 \cdot b_y, n_1 \cdot b_z + n_2 \cdot \frac{a}{2} \right) \quad (6.6)$$

n_1 und n_2 geben dabei die Dipole entlang der y- bzw. z-Richtung an. b_y und b_z sind die Projektionen von b auf die y- bzw. die z-Achse. Die Orientierung der Dipole auf ihren entsprechenden Positionen ist durch Gleichung (6.7) gegeben.

$$\vec{\mu}(n_1, n_2) = \mu \cdot (-\sin(\beta) \cdot \sin(\alpha(n_2)), \sin(\beta) \cdot \cos(\alpha(n_2)), \cos(\beta)) \quad (6.7)$$

Hier entspricht μ der Dipolstärke, β dem Winkel zwischen dem Dipol und der z-Achse und $\alpha(n_2)$ dem Winkel zwischen dem Dipol und der Lamellenoberfläche. Um die *syn-anti* Konfiguration des Lamellenaggregates zu realisieren gilt $\alpha(n_2) = \alpha_0 \cdot (-1)^{n_2}$ mit $\alpha_0 = 4^\circ$.

Wie auch bei den Simulationen der Zylinder- und Spiralenaggregate wurde als Betrachtungsebene die xz-Ebene gewählt. Das bedeutet, dass man im Falle eines realen Experimentes entlang der Richtung der y-Achse die Kante der Lamelle die sich entlang der z-Achse erstreckt betrachten würde. Dementsprechend wurden ebenfalls alle exzitonischen Übergangsdipolmomente $\vec{\mu}_k$ in die xz-Ebene projiziert.

Simulierte Spektren ohne diagonale Unordnung und mit einem Stickdressing von 10 cm^{-1} bzw. 200 cm^{-1} und die zugehörigen PAS der globalen Analyse sind den Abbildungen 6.19(a,b) bzw. (c,d) dargestellt. Die Abbildungen 6.19(e,f) und (g,h) zeigen jeweils ein Beispiel der 1000 mit diagonaler Unordnung ΔE_n ($\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$) und einer Dressingbreite von 200 cm^{-1} simulierten Spektren, sowie die zugehörigen PAS der globalen Analyse.

Im Gegensatz zu den zylindrischen oder spiralförmigen Strukturen weisen die polarisationsaufgelösten Spektren der zweidimensionalen, planaren Lamelle nur Beiträge unter ähnlichen Polarisierungen auf. In den in Abbildung 6.19 gezeigten polarisationsaufgelösten Spektren beträgt die Polarisation unter der eine maximale Intensität auftritt ungefähr 90° und wird davon ausgehend in Vielfachen von 180° , entsprechend der \cos^2 -förmigen Intensitätsmodulation wiederholt. Unter Polarisierungen von 0° , 180° , 360° usw. nimmt die Intensität an allen spektralen Positionen einen Wert von (nahe) Null an. Bei genauerer Betrachtung des polarisationsaufgelösten Spektrums der Abbildung 6.19(a) erkennt man, dass ein ge-

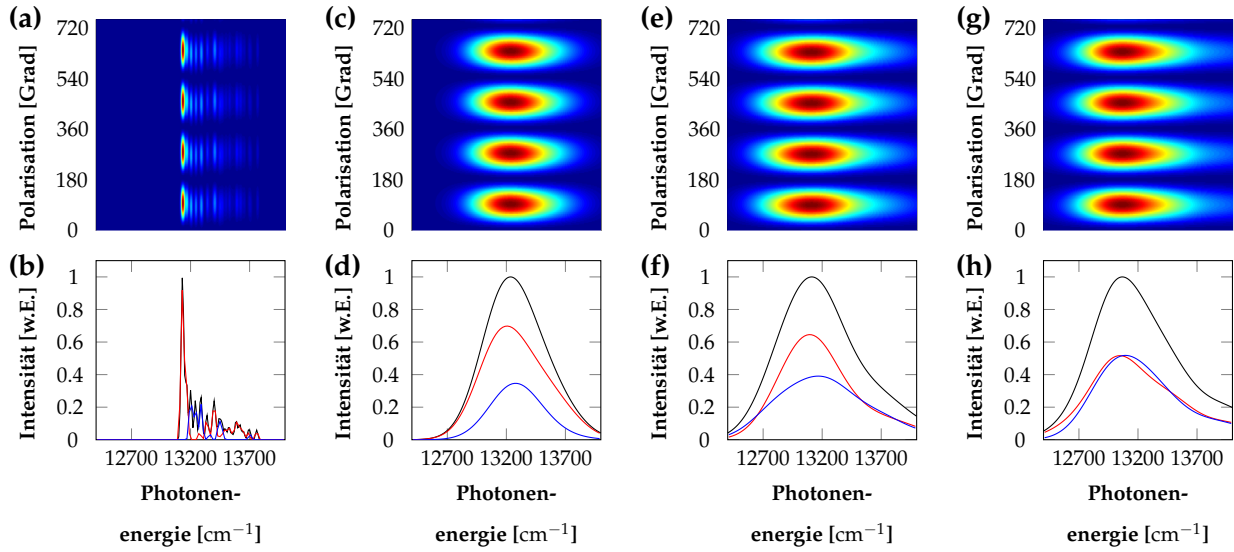


Abbildung 6.19: (a,c,e,g) Zweidimensionale Darstellung der polarisationsaufgelösten Spektren einer zweidimensionalen, planaren Lamelle der Größe $20 \text{ nm} \times 50 \text{ nm}$. Die Auflösung der Polarisation beträgt 3° . (b,d,f,h) Zugehöriges Durchschnittsspektrum (schwarz) und die PAS der globalen Analyse (rot, blau). Die Dressingbreiten der Stickspektren sind 10 cm^{-1} in (a,b) und 200 cm^{-1} in (c,d), (e,f) und (g,h). In (a,b) und (c,d) wurde keine diagonale Unordnung angelegt, wohingegen die in (e,f) und (g,h) gaußverteilt ist und eine Standardabweichung von $\sigma = 250 \text{ cm}^{-1}$ hat.

ringer Phasenunterschied zwischen den intensitätsmodulierten Beiträgen unterschiedlicher spektraler Positionen besteht. Dieser Unterschied ist mit zunehmender Dressingbreite nicht mehr ersichtlich (Abbildungen 6.19(c,e,g)). Aus dem Vergleich der Abbildung 6.19(c) mit den Abbildungen 6.19(e,g) ist ersichtlich, dass die diagonale Unordnung einen geringeren Einfluss auf die Gestalt der polarisationsaufgelösten Spektren ausübt als bei den Simulationen der zylindrischen oder spiralförmigen Aggregate.

Die globale Analyse der 1000 mit diagonaler Unordnung und einer Dressingbreite von 200 cm^{-1} simulierten Spektren liefert Mittelwerte und Standardabweichungen von $(13210 \pm 17) \text{ cm}^{-1}$, $(13149 \pm 29) \text{ cm}^{-1}$ und $(13218 \pm 40) \text{ cm}^{-1}$ für die spektralen Schwerpunkte der Durchschnittsspektren und der nieder- und hochenergetischen PAS, sowie $(69 \pm 54) \text{ cm}^{-1}$ für die Differenz der spektralen Schwerpunkte und $(64,0 \pm 0,1)^\circ$ für den Phasenwinkel der PAS. Ihre Verteilungen sind in Abbildung 6.20 dargestellt.

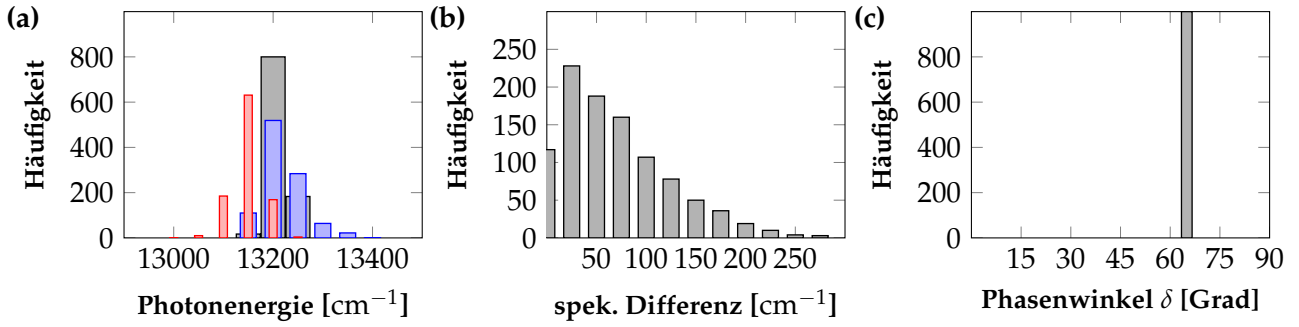


Abbildung 6.20: Verteilungen der Ergebnisse aus der globalen Analyse der simulierten Spektren des zweidimensionalen, planaren Lamellenaggregates. (a) Spektrale Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums (schwarz) und der nieder- und hochenergetischen PAS (rot, blau). (b) Spektrale Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS. (c) Phasenwinkel δ zwischen den nieder- und hochenergetischen PAS.

6.5 Zusammenfassung und Diskussion der Simulationsergebnisse

Bei allen durchgeführten Simulationen wurden die Wechselwirkungen aller beteiligten Übergangsdipolmomente in Dipol-Dipol Näherung berücksichtigt. Es wurden keine weiteren Näherungen, beispielsweise besondere Randbedingungen (vgl. Referenzen [113, 116, 117, 119]), denen die Aggregate unterlagen, herangezogen. Der wesentliche Unterschied zwischen zylindrischen Aggregaten dieser Arbeit und theoretischen Studien an zylindrischen J-Aggregaten, die in Kapitel 3.3.1 besprochen wurden, besteht darin, dass letztere aus übereinander gestapelten Ringen, die um einen Scherwinkel gegeneinander rotiert sind, bestehen, wohingegen die in dieser Arbeit simulierten Aggregate aus Helices aufgebaut sind, die sich um eine zylindrische Struktur herum winden. Aufgrund der helikalen Parametrisierung war es möglich dreidimensionale, spiralförmige Aggregate zu bilden, indem der Krümmungsradius mit jedem weiteren, auf der Helix patzierten Dipol vergrößert wurde.

In Tabelle 6.2 sind die Mittelwerte und Standardabweichungen der mit diagonalen Unordnung simulierten Aggregate zusammengefasst. Aus der Tabelle ist ersichtlich, dass die Spektralen Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums und der PAS sowohl für die zylindrischen als auch für die spiralförmigen Aggregate mit Vergrößerung des Aggregates zu

niedrigeren Energien verschieben. Dieses Verhalten wurde ebenfalls in den Referenzen [111–114, 116, 119] beschrieben.

	spektraler Schwerpunkt			spektrale Differenz	Phasenwinkel
	Durchschnitt [cm ⁻¹]	PAS 1 [cm ⁻¹]	PAS 2 [cm ⁻¹]	[cm ⁻¹]	[Grad]
Zylinder 1, $\varnothing_1 = 5,32$ nm	13 041 \pm 41	13 019 \pm 16	13 065 \pm 16	46 \pm 24	88,0 \pm 1,0
Zylinder 2, $\varnothing_2 = 9,28$ nm	12 955 \pm 11	12 950 \pm 13	12 975 \pm 13	25 \pm 14	88,0 \pm 1,0
Doppelwandiger Zylinder	12 903 \pm 11	12 886 \pm 13	12 924 \pm 15	38 \pm 18	89,0 \pm 1,0
3d Spirale 1, $\varnothing_1 = 6,57$ nm	13 048 \pm 14	13 025 \pm 16	13 074 \pm 19	48 \pm 24	88,8 \pm 0,9
3d Spirale 2, $\varnothing_2 = 8,66$ nm	12 990 \pm 10	12 981 \pm 12	13 014 \pm 14	33 \pm 17	89,0 \pm 0,8
Planare Lamelle der Größe 20 nm \times 50 nm	13 210 \pm 17	13 149 \pm 29	13 218 \pm 40	69 \pm 54	64,0 \pm 0,1

Tabelle 6.2: Mittelwerte und Standardabweichungen der spektralen Schwerpunkte der Durchschnittsspektren, der PAS, der Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS und des Phasenwinkels δ der PAS aller mit diagonalen Unordnung simulierter Aggregate.

Die Differenz zwischen den nieder- und hochenergetischen PAS wird mit zunehmender Aggregatgröße der Zylinder bzw. der dreidimensionalen Spiralen geringer. Das ist intuitiv verständlich, weil der Orientierungsfaktor κ (vgl. Gleichung (3.6)) größere Werte annimmt, wenn das Aggregat, bei gleichbleibenden Abständen zwischen den Dipolen, vergrößert wird. In diesem Fall ist der Winkel, den angrenzende Dipole einschließen kleiner und somit wird κ aufgrund seiner Winkelabhängigkeit größer. Dies bewirkt ebenfalls einen geringeren relativen Einfluss der diagonalen Unordnung auf größere Aggregate. Interessant ist, dass die spektralen Schwerpunkte der PAS des doppelwandigen Zylinders nur eine geringfügig kleinere Differenz aufweisen als der einzelwandige Zylinder mit einem Durchmesser von $\varnothing_1 = 5,32$ nm. Es hat den Anschein, dass der innere Zylinder des doppelwandiges Aggregates das definierende Element für Exzitonzustände bei höheren Energien ist. Die Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS im Fall des Spiralenaggregates mit einem Durchmesser von $\varnothing_2 = 8,66$ nm befindet sich genau zwischen dem doppelwandigen und dem größeren ($\varnothing_2 = 9,28$ nm) einzelwandigen Zylinderaggregat. Dieser Umstand lässt sich ebenfalls nach-

vollziehen, da der Orientierungsfaktor κ im Fall der spiralförmigen Aggregate eine Funktion der Bogenlänge der Helices ist und somit kleinere Werte als im kleineren Zylindrischen Aggregat, aber auch größere Werte als im größeren zylindrischen Aggregat annimmt. Das bedeutet, dass die Eigenschaften kleinerer und größerer zylindrischer Aggregate innerhalb eines spiralförmigen Aggregates vereint werden. Der Phasenwinkel ist bei allen zylindrischen und spiralförmigen Aggregaten sehr dicht um 90° verteilt. Das ist ein Indiz dafür, dass exzitonische Übergangsdipolmomente orthogonal zueinander orientiert sein können.

Die Ergebnisse der Simulationen der planaren, zweidimensionalen Lamelle unterscheiden sich stark von denen der gekrümmten, dreidimensionalen Strukturen. Zuerst ist ersichtlich, dass die spektralen Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums und der PAS, im Vergleich zu den zylindrischen und spiralförmigen Aggregaten, um höhere energetische Mittelwerte verteilt sind. Zweitens nimmt die Differenz der spektralen Schwerpunkte der nieder- und hochenergetischen PAS höhere Maximalwerte an und drittens ist der Phasenwinkel um einen Wert von $(64,0 \pm 0,1)^\circ$ verteilt. Aus letzterem lässt sich schlussfolgern, dass die exzitonischen Dipolmomente der Lamelle nicht orthogonal zueinander orientiert sein können oder dass es nur eine dermaßen geringe Anzahl gibt, dass sie keinen nennenswerten Einfluss hat. Die Lamelle wurde so aufgebaut, dass die optische Achse unter experimentellen Bedingungen entlang der y-Achse und somit parallel zur kurzen Seite der Lamelle (20 nm) verlaufen würde, sodass man die Kante der langen Seite (50 nm) betrachtet. Unter den Gesichtspunkt, dass die Lamelle planar ist und somit keine Krümmung aufweist und dass die auf ihr platzierten Dipole nur Winkel von $\pm 4^\circ$ mit ihrer langen Seite einschließen, ist es verständlich, dass nur ein äußerst geringer Anteil der Oszillatorenstärke in Exzitonzuständen vorhanden ist, deren Übergangsdipolmomente sowohl senkrecht zur langen als auch senkrecht zur kurzen Seite der Lamelle orientiert sind.

7 Vergleich zwischen Experiment und Simulation

Um die statistischen Ergebnisse der experimentellen Daten mit denen der Simulationen zu vergleichen, wurden die Histogramme der Kapitel 5 und 6 zusammengefasst und sind in Abbildung 7.1 dargestellt. Die erste Spalte zeigt dabei Verteilungen der spektralen Schwerpunkte der Durchschnittsspektren und der nieder- (rot) und hochenergetischen (blau) PAS. In der zweiten Spalte sind die Verteilungen der Differenz zwischen den nieder- und hochenergetischen PAS abgebildet und in der dritten Spalte der Phasenwinkel der nieder- und hochenergetischen PAS. In den ersten beiden Reihen sind die Ergebnisse des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp bzw. des *bchR* Mutanten dargestellt. Die darauf folgenden Reihen zeigen die Verteilungen der simulierten Strukturen, die durch die grünen Symbole im jeweils rechten Histogramm angedeutet sind. Diese sind einzelwandige Zylinder mit Durchmessern von $\varnothing_1 = 5,32 \text{ nm}$ bzw. $\varnothing_1 = 9,28 \text{ nm}$, ein doppelwandiger Zylinder mit den gleichen Durchmessern der einzelwandigen Zylindern, zwei dreidimensionale Spiralenaggregate mit Durchmessern von $\varnothing_1 = 6,57 \text{ nm}$ bzw. $\varnothing_2 = 8,66 \text{ nm}$ und eine zweidimensionale, planare Lamelle mit einer Größe von $20 \text{ nm} \times 50 \text{ nm}$. Die Verteilungen der spektralen Schwerpunkte sind im Falle aller Simulationen, verglichen mit den experimentellen Daten des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp bzw. des *bchR* Mutanten, zu niedrigeren Energien verschoben und sind gegenüber dem *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp auch deutlich schmaler. Die Diskrepanz zwischen Simulation und Experiment bezüglich der energetischen Positionierung der Verteilungen ist eine direkte Konsequenz der Vereinfachungen, die zur Eingrenzung freier Parameter der Simulationen gemacht wurden. Es wurde angenommen, dass alle monomeren

BChl Moleküle eines Aggregates die Gleiche Übergangsenergie besitzen. Zusätzlich wurde die relative Permittivität der Umgebung vernachlässigt ($\epsilon = 1$). Durch diese beiden Parameter lässt sich eine Verlagerung der spektralen Schwerpunkte realisieren. Dementsprechend sind die Differenz zwischen den spektralen Schwerpunkten und der Phasenwinkel δ der PAS im Vergleich zwischen Simulation und Experiment aussagekräftiger als die absolute Positionierung der spektralen Schwerpunkte.

An dieser Stelle muss erwähnt werden, dass die Nahordnung des *bchR* Mutanten im Gegensatz zu der des Wildtyps nicht bekannt ist und sich ihre Einheitszellen, durch welche die Pigmente angeordnet werden möglicherweise unterscheiden. Nichtsdestotrotz werden die Ergebnisse des *bchR* Mutanten mit denen der Simulationen verglichen um eventuelle Aussagen über die Heterogenität der in Chlorosomen enthaltenen BChl Molekülaggregate zu treffen.

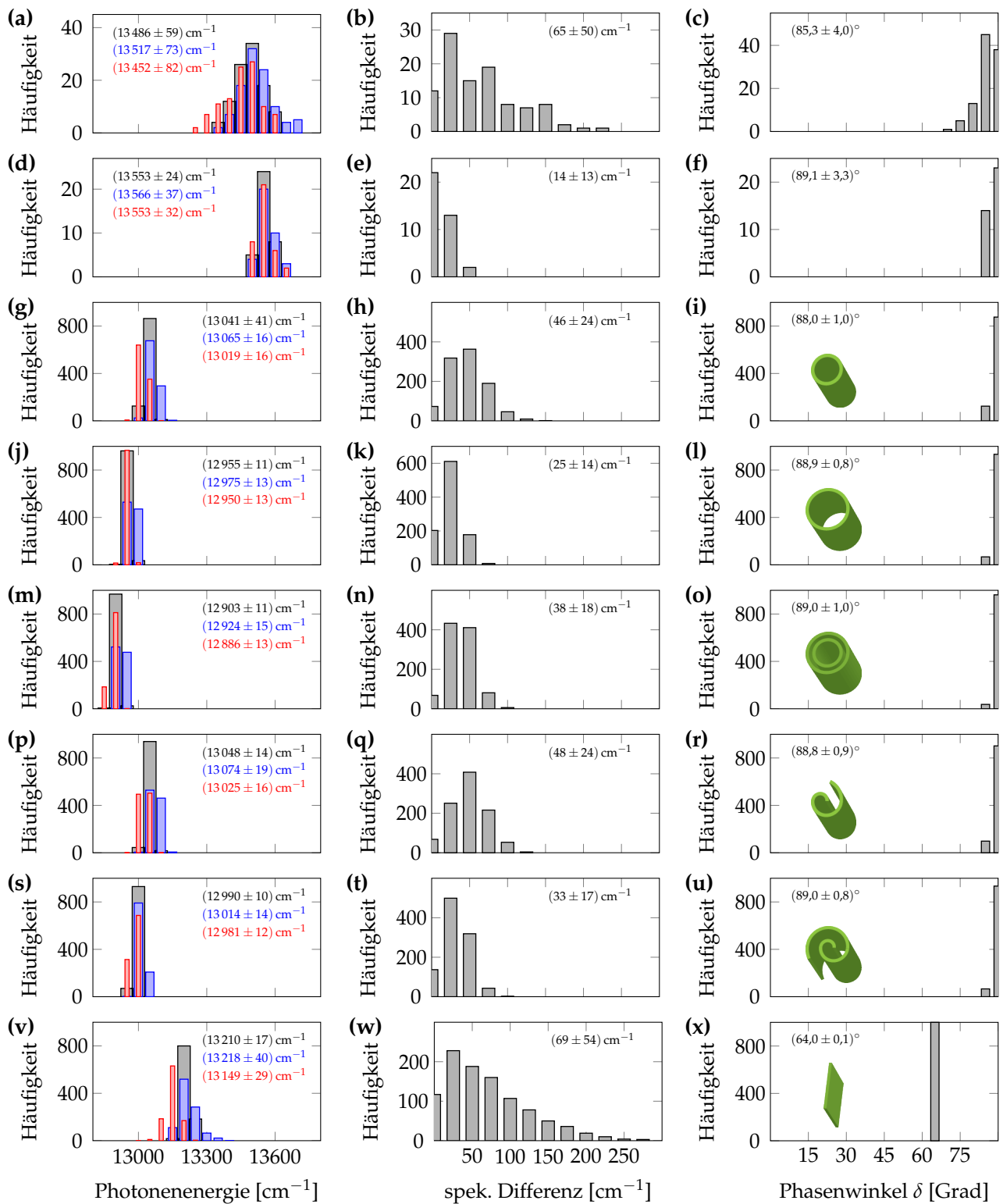


Abbildung 7.1: Die Reihen beziehen sich auf verschiedenen strukturelle Modelle der supramolekulare BChl Organisation, die durch die grünen Symbole auf der rechten Seite angedeutet werden. Von oben nach unten: (a-c) Experimentelle Daten: wild type Chlorosome, (d-f) Experimentelle Daten: *bchR* Mutant Chlorosome, (g-i) einzelwandiger Zylinder mit $\varnothing_1 = 5,32$ nm, (j-l) einzelwandiger Zylinder mit $\varnothing_2 = 9,28$ nm, (m-o) doppelwandiger Zylinder, (p-r) Spirale 1 mit $\varnothing_1 = 6,57$ nm, (s-u) Spirale 2 mit $\varnothing_2 = 8,66$ nm, (v-x) planare Lamelle der Größe $20 \text{ nm} \times 50 \text{ nm}$. Die erste Spalte zeigt die spektralen Schwerpunkte des Durchschnittsspektrums (grey) und der nieder- (rot) und hochenergetischen (blau) PAS. Die zweite Spalte zeigt die Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS und die dritte Spalte den Phasenwinkel δ der PAS. Die Zahlen in den Graphen geben jeweils die Mittelwerte und Standardabweichungen der entsprechenden Verteilungen an.

7.1 Vergleich der Ergebnisse des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp mit den Simulationen

Das Histogramm der Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp weist eine breite Verteilung auf, in der deutliche energetische Separationen ($> 200 \text{ cm}^{-1}$) auftreten. Die gleichen Verteilungen der simulierten dreidimensionalen Aggregate (einzelschichtige Zylinder, doppelwandiger Zylinder und Spiralen) weisen eine symmetrische Gestalt auf und Höchstwerte von 150 cm^{-1} werden nur in den Fällen der kleineren Aggregate erreicht. Im Falle der planaren, zweidimensionalen Lamelle ist die Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS asymmetrisch und ähnelt der Verteilung des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp. Es werden energetische Separationen von 225 cm^{-1} erreicht. Die Phasenwinkel δ der experimentellen und simulierten Daten sind, mit Ausnahme der Lamelle eng um 90° verteilt. Die Verteilung des Phasenwinkels $\delta = (64,0 \pm 0,1)^\circ$ der Lamelle weicht stark von den experimentellen Befunden des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp ab.

Der Vergleich der experimentellen Befunde mit denen der Simulationen lässt vermuten, dass das Innere von den im Rahmen dieser Arbeit untersuchten Chlorosomen nicht ausschließlich mit zweidimensionalen, planaren Lamellenaggregaten gefüllt ist, die untereinander nicht wechselwirken. Anhand der Simulationen ist ein Ausschluss zylindrischer oder spiralförmiger Aggregate nicht möglich. Unter den Annahmen mehrwandiger, röhrenförmiger Aggregate [110] und großer Heterogenität der Proben [121, 167, 168] ist es wahrscheinlich, dass das Histogramm der Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp (Abbildung 7.1(b)) eine Superposition aus mehreren Verteilungen der simulierten zylindrischen und spiralförmigen Aggregaten ist (Abbildungen 7.1(h,k,n,q,t)).

Zusammengefasst sind die polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren der BChl Molekülaggregate von Chlorosomen des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp kompatibel mit dem Modell der Einheitszelle aus Referenz [105], welche die Nahordnung definiert. Es

ist anzunehmen, dass ein Gemisch verschiedener Aggregatstrukturen (Zylinder, dreidimensionale Spiralen) in einem Chlorosom enthalten sind. Es ist durchaus möglich, dass ebenfalls Lamellenaggregate zwischen den röhrenartigen Aggregaten enthalten sind, die sich an deren Oberflächen anschmiegen und somit nicht planar, sondern gewellt sind. Vermutlich könnten derartige Anordnung den Phasenwinkel δ zu geringeren Werten hin beeinflussen, wie es in Abbildung 7.1(c) zu sehen ist. Diese Vermutung muss allerdings durch Simulationen gewellter lamellenartiger Aggregate überprüft werden und ist aufgrund der Vielzahl freier Parameter nicht Bestandteil dieser Arbeit.

7.2 Vergleich der Ergebnisse des *Chlorobaculum tepidum bchR*

Mutanten mit den Simulationen

Die Verteilungen der spektralen Schwerpunkte der Durchschnittsspektren und der PAS der Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten sind deutlich schmäler als die des Wildtyp Chlorosome und stimmen bezüglich ihrer Standardabweichungen (nicht bezüglich ihrer absoluten Position) relativ gut mit den Befunden der Simulationen der zylindrischen und spiralförmigen Aggregate überein. Die Histogramme der Differenzen der spektralen Schwerpunkte der PAS der größeren röhrenförmigen Aggregate (Zylinder $\varnothing_2 = 9,28$ nm, dreidimensionale Spirale $\varnothing_2 = 8,66$ nm) stimmen ebenfalls gut und deutlich besser als die der kleineren Aggregate mit dem zugehörigen Histogramm des *bchR* Mutanten überein. Mit einem Mittelwert und einer Standardabweichung von $(89,1 \pm 3,3)^\circ$ stimmt das Verhalten des Phasenwinkels δ sehr gut mit dem der simulierten, röhrenförmigen Strukturen überein. Die Tendenz zur besseren Übereinstimmung mit den Befunden der größeren Aggregate legt nahe, dass die strukturelle Unordnung innerhalb des *bchR* Mutanten im Vergleich zum Wildtyp reduziert ist. Die Mutation des *bchR* Mutanten bewirkt eine Festlegung der R_{12} Seitengruppe an der Position C_{12} der enthaltenen BChl Molekülaggregate. Aufgrund dieser

Tatsache ist die Variation der Homologe der enthaltenen BChl Moleküle reduziert. Die Bindung zwischen BChl Molekülen findet zwischen der Hydroxylgruppe an der C_3^1 Position und Ketogruppe der C_{13}^1 Position eines angrenzenden BChl Moleküls statt (vgl. Kapitel 2.4). Die C_{12} Seitengruppe befindet sich in unmittelbarer Nähe zur Ketogruppe der C_{13}^1 Position, was zu dem Rückschluss führt, dass durch die Festlegung der C_{12} Seitengruppe durch die Mutation auch der unmittelbare Einfluss der Seitengruppe auf die Bindung festgelegt wird. Dieser Umstand könnte zur Folge haben, dass größere Aggregate mit einer geringeren Anzahl an Unterdomänen geformt werden und das kleinere Aggregate eine untergeordnete Rolle spielen.

Generell kann aufgrund des Vergleichs der Histogramme der experimentellen Daten mit den Befunden der Simulationen keines der zylindrischen oder spiralförmigen Aggregate ausgeschlossen werden. Aufgrund des niedrigen Mittelwertes und der Standardabweichung der Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS ist aber eine Tendenz zu größeren Aggregatstrukturen ersichtlich. Weiterhin ist es, aus den oben genannten Gründen und der Verteilung des Phasenwinkels δ unwahrscheinlich, dass nicht wechselwirkende zweidimensionale, planare Lamellen im Inneren der Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum bchR* Mutanten enthalten sind.

7.3 CD Spektren verschiedener Chlorosome des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum*

Die Zirkulardichroismus-Spektroskopie (eng.: circular-dichroism spectroscopy) ist eine höchst sensitive Methode zur Untersuchung helikaler Eigenschaften optisch aktiver Medien und es wurden unlängst Ensemble-CD Spektren an Chlorosomen des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum* aufgenommen [93]. Es wurden sowohl der Wildtyp, als auch die *bchQ*, *bchR* und *bchQR* Mutanten untersucht. Ihre Spektren sind in Abbildung 7.2

dargestellt und wurden zur besseren Vergleichbarkeit auf eine maximale Intensität von eins normiert. Es ist ersichtlich, dass die CD Spektren des Wildtyp und des *bchQ* eine ähnliche Gestalt aufweisen. Beide Spektren haben eine positive Bande bei niedrigen und eine negative Bande bei hohen Energien. Dieses Verhalten ist genau gegensätzlich zu den Chlorosomen der *bchR* und *bchQR* Mutanten. Diese weisen eine negative Bande bei niedrigen und eine positive Bande bei hohen Energien auf. Tatsächlich sind die CD Spektren der *bchR* und *bchQR* Mutanten, bis auf geringe Abweichungen in der negativen Bande, identisch.

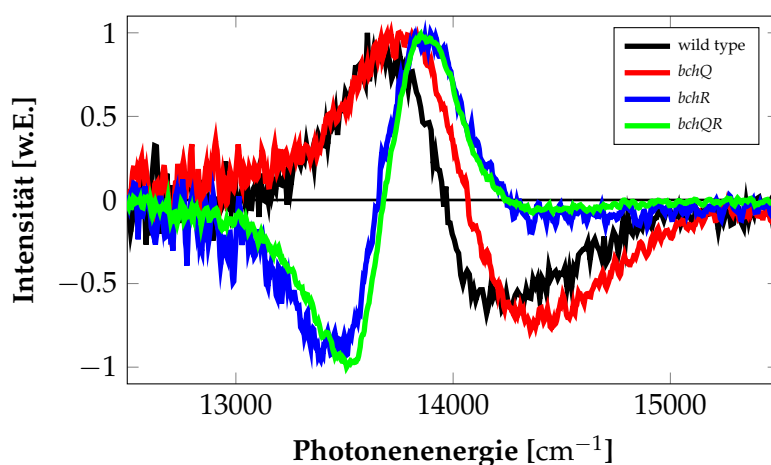


Abbildung 7.2: Normierte CD Spektren der Chlorosomenensembles des wild type (schwarz), *bchQ* Mutanten (rot), *bchR* Mutanten (blau) und *bchQR* Mutanten (grün). Aus [93].

Durch die Mutationen des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum tepidum* wurden im *bchR* Mutanten die R_{12} Seitengruppe an der Position C_{12} , im *bchQ* Mutanten die R_8 Seitengruppe an der Position C_8 und im *bchQR* Mutanten sowohl die R_{12} Seitengruppe, als auch die R_8 Seitengruppe festgelegt. Aufgrund der identischen CD Spektren der Chlorosome der *bchR* und *bchQR* Mutanten und des deutlich unterschiedlichen CD Spektrums des *bchQ* Mutanten, bei dem die R_{12} Seitengruppe variabel ist, lässt sich schlussfolgern, dass die R_{12} Seitengruppe im Gegensatz zur R_8 Seitengruppe einen entscheidenden Unterschied in der Aggregation der BChl Moleküle im Vergleich zum Wildtyp herbei führt.

Unter der Berücksichtigung, dass eine Bindung zwischen BChl Molekülen durch die

Hydroxylgruppe an der C_3^1 Position eines BChl Moleküls und der Ketogruppe der C_{13}^1 Position eines angrenzenden BChl Moleküls entsteht, ist es wahrscheinlich, dass eine Variation der R_{12} Seitengruppe einen breit gefächerten Einfluss (wie auch immer geartet) auf diese Bindung ausübt. Aufgrund der größeren Distanz zwischen der Bindung und der R_8 Seitengruppe, ist anzunehmen, dass letztere einen vernachlässigbar kleinen Einfluss auf die Bindung und damit auf die Anordnung der BChl Moleküle hat. Als Folge der genannten Umstände ist eine Reduktion der strukturellen Heterogenität innerhalb individueller Chlorosome, bei denen die R_{12} Seitengruppe festgelegt ist, ebenfalls wahrscheinlich. Die Interpretation der CD Spektren erhärtet in diesem Fall die in Abschnitt 7.2 getroffene Schlussfolgerung.

Des weiteren ist eine grundlegend andere Nahordnung der BChl Molekülaggregate des *bchR* und des *bchQR* verglichen mit der des Wildtyps oder des *bchQ* Mutanten denkbar. Um genauere Aussagen darüber treffen zu können ist eine Kenntnis über die Nahordnung und somit der Einheitszelle der BChl Molekülaggregate des *bchR* Mutanten erforderlich. Diese Informationen können durch NMR Experimente an Chlorosomen des *bchR* Mutanten gewonnen werden und liegen derzeit nicht vor. Mit der Kenntnis der Nahordnung könnten Simulationen von Aggregatstrukturen wiederholt und anschließend mit den experimentellen Ergebnissen verglichen werden.

8 Zusammenfassung

Chlorosome sind die größten und wichtigsten Lichtsammelkomplexe der grünen Schwefel- und nicht-Schwefelbakterien. Ihre Aufgabe ist die Absorption von Photonen und der Transfer der Energie bis hin zum Reaktionszentrum. Im Rahmen dieser Arbeit wurden die elektronische Struktur und die exzitonischen Zustände einzelner Chlorosome des *Chlorobaculum tepidum* Wildtyp und *bchR* Mutanten untersucht.

Sowohl die Chlorosome des Wildtyp, als auch die des *bchR* Mutanten wurden durch Absorptions- und Fluoreszenz-Emissionsspektroskopie an Ensembleproben charakterisiert. Einzelne Chlorosome wurden daraufhin bei Raumtemperatur und 1,5 K untersucht. Von jedem der untersuchten Chlorosome wurde eine bestimmte Anzahl von Fluoreszenz-Anregungsspektren aufgenommen und nach jeder Aufnahme wurde die Polarisierung der Anregungsstrahlung um einen bestimmten Winkel gedreht. Auf diese Weise wurden polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren erhalten. Im Gegensatz zu den bei Raumtemperatur aufgenommenen polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren, dessen Durchschnittsspektren breite Banden ohne Besonderheiten aufweisen, zeigen die bei 1,5 K aufgenommenen Spektren ausgeprägte Schultern auf den nieder- oder hochenergetischen Flanken des Maximums der Durchschnittsspektren. Die Analyse der Spektren und der frequenzabhängigen Modulationstiefe zeigt, dass bei tiefen Temperaturen strukturelle Fluktuationen unterdrückt werden und die in Chlorosomen enthaltenen BChl Molekülaggregate in bestimmten Konformationen eingeschlossen werden. Bei Raumtemperaturaufnahmen wird über derartige Konformationen gemittelt und die Spektren erscheinen somit homogener.

Es wurde eine Methode zur globalen Analyse der polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren in Analogie zu zerfalls-assozierten Spektren (DAS) entwickelt, über die sogenannte polarisations-assozierte Spektren PAS erhalten wurden. Bei dieser Analyse wurden die polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren mit zwei globalen und zwei frequenzabhängigen lokalen Parametern gefittet. An jeder spektralen Position wird das polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektrum mit zwei \cos^2 modulierten Funktionen entlang der Polarisation gefittet. Der Nullphasenwinkel und der Phasenwinkel der \cos^2 -Funktionen sind dabei die globalen Parameter. Die Amplituden der \cos^2 -Funktionen sind die Intensitäten der PAS an der jeweiligen spektralen Position. Sowohl die polarisationsaufgelöste Fluoreszenz-Anregungsspektren der Chlorosome des Wildtyps als auch des *bchR* Mutanten wurden mittels dieser Methode ausgewertet. Die Analyse der Spektren der Wildtyp Chlorosome liefert breite Verteilungen der spektralen Schwerpunkte der Durchschnittsspektren und der PAS, sowie der Differenz der spektralen Schwerpunkte der PAS. Anders verhält es sich bei den Ergebnissen aus Analyse der Spektren der Chlorosome der *bchR* Mutanten. In diesem Fall sind die Verteilung verglichen mit denen des Wildtyp eng und deuten auf eine Reduktion der Probenheterogenität. Der Phasenwinkel ist in beiden Fällen eng um ungefähr 90° verteilt, was auf orthogonal zueinander orientierte exzitonische Übergangsdipolmomente der BChl Moleküle hinweist.

Es wurden Computersimulationen verschiedener BChl Molekülaggregate durchgeführt. Für die strukturelle Nahordnung wurde eine Einheitszelle, die durch NMR Experimente gefunden wurde, herangezogen. Die strukturelle Fernordnung wurde durch zwei einzelwandige Zylinder unterschiedlicher Durchmesser, einen doppelwandigen Zylinder, der aus den einzelwandigen Zylinder zusammengesetzt wurde, zwei dreidimensionale Spiralen unterschiedlicher Durchmesser und eine zweidimensionale, planare Lamelle realisiert. Die durch die Simulationen der Aggregatmodelle erhaltenen Spektren sind kompatibel mit den experimentell aufgenommenen Spektren. Im Falle der Wildtyp Chlorosome wurde geschlussfolgert,

dass ein Gemisch verschiedener BChl Molekülaggregate im Inneren der Chlorosome enthalten ist und das kleinere Aggregate einen entscheidenden Einfluss haben. Im Falle des *bchR* Mutanten wurde vermutet, dass hauptsächlich größere Aggregate aufgrund der reduzierten strukturellen Heterogenität das Innere eines Chlorosoms ausfüllen. Nicht-wechselwirkende zweidimensionale, planare Lamellen wurden in beiden Fällen ausgeschlossen. Es muss allerdings erwähnt werden, dass wechselwirkende oder gewellte Lamellenaggregate nicht simuliert wurden und möglicherweise Zwischenräume, die zwischen röhrenartigen Aggregaten entstehen ausfüllen könnten.

Generell wurde gezeigt, dass Spektroskopie bei tiefen Temperaturen und an individuellen Komplexen eine potente Methode darstellt, die Eigenschaften aufzeigt, die unter Raumtemperatur- oder Ensembleexperimenten verborgen bleiben. Der Vergleich zwischen experimentellen Befunden und denen numerisch simulierter Modelle ermöglicht Aussagen über die Kompatibilität hypothetischer und realer Pigmentanordnungen.

9 Summary

Chlorosomes are the biggest and most important light-harvesting complexes of green sulphur and non-sulphur bacteria. They absorb photons and transfer the energy to the reaction centre. This work covers the investigations of the electronic structure and excitonic states of individual chlorosomes of the *Chlorobaculum tepidum* wild type and *bchR* mutant.

Both chlorosomes from the wild type and from the *bchR* mutant have been characterised by absorption and fluorescence-emission spectroscopy of ensemble samples. Thereupon individual chlorosomes were investigated at room temperature and 1,5 K. In case of each individual chlorosom a certain number of fluorescence-excitation spectra were acquired and after each spectrum the polarisation of the exciting radiation was rotated about a certain angle. Thus polarisation-resolved fluorescence-excitation spectra were obtained. In contrast to the polarisation-resolved fluorescence-excitation spectra that were acquired at room temperature and exhibit broad, featureless bands, the spectra recorded at 1,5 K show pronounced shoulders on the low and high energy flanks of the peak intensity of the average spectrum. The analysis of the spectra and the frequency dependent modulation depth indicate that structural fluctuations are suppressed at low temperature and that aggregates of BChl molecules in the inside of chlorosomes are trapped in certain configurations. The room temperature spectra represent a temporal average over many conformational states and appear more homogeneous.

In analogy to decay-associated spectra (DAS) polarisation-associated spectra (PAS) were obtained by method that was developed to analyse the polarisation-resolved fluorescence-

excitation spectra in a global manner. Using this method the polarisation-resolved fluorescence-excitation spectra were fitted with two global and two frequency dependent local parameters. Each spectral position of the polarisation-resolved fluorescence-excitation spectrum was fitted with two \cos^2 -functions as a function of the polarisation. The initial phase and the phase angle of the \cos^2 -functions represent the global parameters. The amplitudes of the \cos^2 -functions accord to the intensities of the PAS at the corresponding spectral position. Both the polarisation-resolved fluorescence-excitation spectra of the wild type and *bchR* mutant chlorosomes were analysed using this procedure. The evaluation of the wild type chlorosome spectra leads to broad distributions of the spectral centres of gravity (spectral means) of both the average spectrum and of the PAS as well as of the separation of the PASs spectral means. The outcome of the evaluation of the *bchR* mutant spectra behave contrary to the above mentioned. Here distributions are, compared to the wild type distributions, much narrower and indicate a reduction of the sample heterogeneity. The phase angle is in both cases narrowly distributed around approximately 90° and gives evidence for excitonic transition-dipole moments of the BChl molecules that are aligned orthogonal with respect to each other.

Computer simulations of different aggregates of BChl molecules have been carried out. The basis of the structural short-range order is a unit cell, that was found through NMR experiments. The long-range order was realised by two single wall cylinders of different radii, a double wall cylinder, assembled from the single wall cylinders, two 2-dimensional scrolls (spirals structures) of different radii and a planar sheet. Spectra that were obtained through the simulations of the aggregate structures are compatible with the experimentally acquired spectra. In case of the wild type chlorosomes it was concluded that a mixture of different BChl molecule-aggregates is present in the inside of a chlorosome and that rather smaller aggregates than big ones are present. In case of *bchR* mutant chlorosomes it was assumed, that mainly large aggregates that also reduce structural heterogeneity fill the inside

of chlorosomes. Non-interacting 2-dimensional, planar sheets were excluded in both cases. However, it must be stated, that interacting or undulated sheet structures have not been simulated. It is conceivable that they occupy empty space that occurs between rod-like aggregates.

It has been shown that low temperature spectroscopy of individual complexes is a powerful tool to reveal properties that are hidden at room temperature or averaged out at ensemble experiments. The comparison between experimental results and numerically simulated models allows to find conclusions concerning hypothetical and actual pigment assemblies.

Literaturverzeichnis

- [1] World energy consumption since 1820 in charts, 2012.
<http://ourfiniteworld.com/>.
- [2] The bp energy outlook 2035, 2014.
<http://www.bp.com/energyoutlook/>.
- [3] International Energy Agency. World energy outlook 2013, 2013.
<http://www.worldenergyoutlook.org/>.
- [4] International Energy Agency. Key world energy statistics, 2012.
<http://www.iea.org/publications/freepublications/publication/kwes.pdf/>.
- [5] Vaclav Smil. *Energy: a beginner's guide*. Beginner's guides. Oneworld, Oxford, 2009.
- [6] Donald A Bryant and Niels-Ulrik Frigaard. Prokaryotic photosynthesis and phototrophy illuminated. *Trends in microbiology*, 14(11):488–496, 2006.
- [7] Donald A Bryant, Amaya M Garcia Costas, Julia A Maresca, Aline Gomez Maqueo Chew, Christian G Klatt, Mary M Bateson, Luke J Tallon, Jessica Hostetler, William C Nelson, John F Heidelberg, and David M Ward. *Candidatus chloracidobacterium thermophilum*: an aerobic phototrophic acidobacterium. *Science (New York, N.Y.)*, 317(5837):523–526, 2007.
- [8] Robert E Blankenship, Michael T Madigan, and C. E Bauer. *Anoxygenic photosynthetic bacteria*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht; Boston, 1995.
- [9] Robert E. Blankenship. *Molecular mechanisms of photosynthesis*. Blackwell Science, Oxford ; Malden, MA, 2002.
- [10] Beverley R Green and William W Parson. *Light-harvesting antennas in photosynthesis*. Kluwer Academic, Dordrecht; Boston, 2003.
- [11] J R Knowles. Enzyme-catalyzed phosphoryl transfer reactions. *Annual review of biochemistry*, 49:877–919, 1980.

- [12] Neil A Campbell, Brad , Williamson, Robin J Heyden, and Pearson/Prentice Hall. *Biology: exploring life*. Pearson/Prentice Hall, Boston, Mass., 2006.
- [13] R. Garrett. *Biochemistry*. Brooks/Cole, Cengage Learning, Belmont, CA, 5th edition, 2013.
- [14] Joseph R Lakowicz. *Principles of fluorescence spectroscopy*. Springer, New York, 2006.
- [15] John M. Olson. Chlorophyll organization and function in green photosynthetic bacteria*. *Photochemistry and Photobiology*, 67(1):61–75, 1998.
- [16] J. T. Beatty. An obligately photosynthetic bacterial anaerobe from a deep-sea hydrothermal vent. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(26):9306–9310, 2005.
- [17] S. A. Crowe, C. Jones, S. Katsev, C. Magen, A. H. O'Neill, A. Sturm, D. E. Canfield, G. D. Haffner, A. Mucci, B. Sundby, and D. A. Fowle. Photoferrotrophs thrive in an archaean ocean analogue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(41):15938–15943, 2008.
- [18] J. Psencik, T.P. Ikonen, P. Laurinmäki, M.C. Merckel, S.J. Butcher, R.E. Serimaa, and R. Tuma. Lamellar organization of pigments in chlorosomes, the light harvesting complexes of green photosynthetic bacteria. *Biophysical Journal*, 87(2):1165–1172, 2004.
- [19] T.P. Ikonen, H. Li, J. Psencik, P.A. Laurinmäki, S.J. Butcher, N.-U. Frigaard, R.E. Serimaa, D.A. Bryant, and R. Tuma. X-ray scattering and electron cryomicroscopy study on the effect of carotenoid biosynthesis to the structure of chlorobium tepidum chlorosomes. *Biophysical Journal*, 93(2):620–628, 2007.
- [20] Henry Lutz Ehrlich and Dianne K Newman. *Geomicrobiology*. CRC, Boca Raton, Fla., London, 2009.
- [21] Ian Fleming. Absolute configuration and the structure of chlorophyll. *Nature*, 216(5111):151–152, 1967.
- [22] Hugo Scheer. *Chlorophylls*. CRC Press, Boca Raton, Fla, 1991.
- [23] Kevin M Davies. *Plant pigments and their manipulation*. Blackwell, Oxford, 2004.
- [24] G A Armstrong and J E Hearst. Carotenoids 2: Genetics and molecular biology of carotenoid pigment biosynthesis. *FASEB*, 10(2):228–237, 1996.

- [25] Eduard Strasburger and Andreas Bresinsky. *Lehrbuch der Botanik*. Spektrum, Akad. Verl., Heidelberg, 2012.
- [26] M. V. Zubkov. Photoheterotrophy in marine prokaryotes. *Journal of Plankton Research*, 31(9):933–938, 2009.
- [27] Michael T Madigan, John M Martinko, and Thomas D Brock. *Brock Mikrobiologie*. Pearson Studium, München, 2006.
- [28] John M. Olson. Photosynthesis in the archaean era. *Photosynthesis Research*, 88(2):109–117, 2006.
- [29] R. Buick. When did oxygenic photosynthesis evolve? *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 363(1504):2731–2743, 2008.
- [30] D. H Bergey and John G Holt. *Bergey's manual of determinative bacteriology*. Williams & Wilkins, Baltimore, 1994.
- [31] Joseph W. Lengeler, G. Drews, and Hans Günter Schlegel. *Biology of the prokaryotes*. Thieme ; Distributed in the USA by Blackwell Science, Stuttgart and New York and Malden, MA, 1999.
- [32] K. P. Dobrinski, D. L. Longo, and K. M. Scott. The carbon-concentrating mechanism of the hydrothermal vent chemolithoautotroph thiomicrospira crunogena. *Journal of Bacteriology*, 187(16):5761–5766, 2005.
- [33] Martin Dworkin and Stanley Falkow. *The prokaryotes: a handbook on the biology of bacteria*. Springer, New York and London, 3rd edition, 2006.
- [34] R E Blankenship and Katsumi Matsuura. Antenna complexes from green photosynthetic bacteria. In *Light-Harvesting Antennas in Photosynthesis*, pages 195–217. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 2003.
- [35] John M. Olson. Chlorophyll organization and function in green photosynthetic bacteria. *Photochemistry and Photobiology*, 67(1):61–75, 1998.
- [36] Beverly K. Pierson and Richard W. Castenholz. A phototrophic gliding filamentous bacterium of hot springs, chloroflexus aurantiacus, gen. and sp. nov. *Archives of Microbiology*, 100(1):5–24, 1974.

- [37] S G Sprague, L A Staehelin, M J DiBartolomeis, and R C Fuller. Isolation and development of chlorosomes in the green bacterium *chloroflexus aurantiacus*. *Journal of bacteriology*, 147(3):1021–1031, 1981.
- [38] B D Bruce, R C Fuller, and R E Blankenship. Primary photochemistry in the facultatively aerobic green photosynthetic bacterium *chloroflexus aurantiacus*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 79(21):6532–6536, 1982.
- [39] J Oelze and R C Fuller. Temperature dependence of growth and membrane-bound activities of *chloroflexus aurantiacus* energy metabolism. *Journal of bacteriology*, 155(1):90–96, 1983.
- [40] S. A. Crowe, C. Jones, S. Katsev, C. Magen, A. H. O'Neill, A. Sturm, D. E. Canfield, G. D. Haffner, A. Mucci, B. Sundby, and D. A. Fowle. Photoferrotrophs thrive in an archean ocean analogue. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(41):15938–15943, 2008.
- [41] J. T. Beatty. An obligately photosynthetic bacterial anaerobe from a deep-sea hydrothermal vent. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 102(26):9306–9310, 2005.
- [42] Niels-Ulrik Frigaard, Aline Gomez Maqueo Chew, Hui Li, Julia A. Maresca, and Donald A. Bryant. *Chlorobium tepidum*: Insights into the structure, physiology, and metabolism of a green sulfur bacterium derived from the complete genome sequence. *Photosynthesis Research*, 78(2):93–117, 2003.
- [43] L A Staehelin, J R Golecki, and G Drews. Supramolecular organization of chlorosomes (chlorobium vesicles) and of their membrane attachment sites in *chlorobium limicola*. *Biochimica et biophysica acta*, 589(1):30–45, 1980.
- [44] Gabriel A. Montano, Benjamin P. Bowen, Jeffrey T. LaBelle, Neal W. Woodbury, Vincent B. Pizziconi, and Robert E. Blankenship. Characterization of *chlorobium tepidum* chlorosomes: A calculation of bacteriochlorophyll c per chlorosome and oligomer modeling. *Biophysical Journal*, 85(4):2560–2565, 2003.
- [45] Jürgen Oelze and Jochen R. Golecki. Membranes and chlorosomes of green bacteria: Structure, composition and development. In Robert E. Blankenship, Michael T. Madigan, and Carl E. Bauer, editors, *Anoxygenic Photosynthetic Bacteria*, volume 2, pages 259–278. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1995.

- [46] Asuncion Martinez-Planells, Juan B. Arellano, Carles M. Borrego, Carmen Lopez-Iglesias, Frederic Gich, and Jesus Garcia-Gil. Determination of the topography and biometry of chlorosomes by atomic force microscopy. *Photosynthesis Research*, 71(1-2): 83–90, 2002.
- [47] N.-U. Frigaard, H. Li, K. J. Milks, and D. A. Bryant. Nine mutants of *chlorobium tepidum* each unable to synthesize a different chlorosome protein still assemble functional chlorosomes. *Journal of Bacteriology*, 186(3):646–653, 2004.
- [48] Yoshitaka Saga, Yutaka Shibata, Shigeru Itoh, and Hitoshi Tamiaki. Direct counting of submicrometer-sized photosynthetic apparatus dispersed in medium at cryogenic temperature by confocal laser fluorescence microscopy: Estimation of the number of bacteriochlorophyll *c* in single light-harvesting antenna complexes chlorosomes of green photosynthetic bacteria. *The Journal of Physical Chemistry B*, 111(43):12605–12609, 2007.
- [49] Gert T. Oostergetel, Herbert Amerongen, and Egbert J. Boekema. The chlorosome: a prototype for efficient light harvesting in photosynthesis. *Photosynthesis Research*, 104(2-3):245–255, 2010.
- [50] Gregory S. Orf and Robert E. Blankenship. Chlorosome antenna complexes from green photosynthetic bacteria. *Photosynthesis Research*, 116(2-3):315–331, 2013.
- [51] Niels-Ulrik Frigaard, Kim L. Larsen, and Raymond P. Cox. Spectrochromatography of photosynthetic pigments as a fingerprinting technique for microbial phototrophs. *FEMS Microbiology Ecology*, 20(2):69–77, 1996.
- [52] Kevin M. Smith. Nomenclature of the bacteriochlorophylls *c*, *d*, and *e*. *Photosynthesis Research*, 41(1):23–26, 1994.
- [53] Elena V. Vassilieva, John G. Ormerod, and Donald A. Bryant. Biosynthesis of chlorosome proteins is not inhibited in acetylene-treated cultures of *chlorobium vibrioforme*. *Photosynthesis Research*, 71(1-2):69–81, 2002.
- [54] Gregory S. Orf, Marcus Tank, Kajetan Vogl, Dariusz M. Niedzwiedzki, Donald A. Bryant, and Robert E. Blankenship. Spectroscopic insights into the decreased efficiency of chlorosomes containing bacteriochlorophyll *f*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1827(4):493–501, 2013.

- [55] Jr Erdman, J W, T L Bierer, and E T Gugger. Absorption and transport of carotenoids. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 691:76–85, 1993.
- [56] Yasushi Koyama, Michitaka Kuki, Per Ola Andersson, and Tomas Gillbro. Singlet excited states and the light-harvesting function of carotenoids in bacterial photosynthesis. *Photochemistry and Photobiology*, 63(3):243–256, 1996.
- [57] Juan B. Arellano, Thor Bernt Melø, Carles M. Borrego, Jesus Garcia-Gil, and K. Razi Naqvi. Nanosecond laser photolysis studies of chlorosomes and artificial aggregates containing bacteriochlorophyll e: Evidence for the proximity of carotenoids and bacteriochlorophyll a in chlorosomes from chlorobium phaeobacteroides strain CL1401. *Photochemistry and Photobiology*, 72(5):669–675, 2007.
- [58] J. Alster, T. Polivka, J.B. Arellano, P. Chabera, F. Vacha, and J. Psencik. β -carotene to bacteriochlorophyll c energy transfer in self-assembled aggregates mimicking chlorosomes. *Chemical Physics*, 373(1-2):90–97, 2010.
- [59] Pavel Klinger, Juan B Arellano, Frantisek Vacha, Jan Hala, and Jakub Psencik. Effect of carotenoids and monogalactosyl diglyceride on bacteriochlorophyll c aggregates in aqueous buffer: implications for the self-assembly of chlorosomes. *Photochemistry and photobiology*, 80(3):572–578, 2004.
- [60] Jakub Psencik, Juan B. Arellano, Teemu P. Ikonen, Carles M. Borrego, Pasi A. Laurinmäki, Sarah J. Butcher, Ritva E. Serimaa, and Roman Tuma. Internal structure of chlorosomes from brown-colored chlorobium species and the role of carotenoids in their assembly. *Biophysical Journal*, 91(4):1433–1440, 2006.
- [61] J. Alster, T. Polivka, J. B. Arellano, P. Hribek, F. Vacha, J. Hala, and J. Psencik. Self-assembly and energy transfer in artificial light-harvesting complexes of bacteriochlorophyll c with astaxanthin. *Photosynthesis Research*, 111(1-2):193–204, 2011.
- [62] N.-U. Frigaard, Shinichi Takaichi, Masamitsu Hirota, Keizo Shimada, and Katsumi Matsuura. Quinones in chlorosomes of green sulfur bacteria and their role in the redox-dependent fluorescence studied in chlorosome-like bacteriochlorophyll c aggregates. *Archives of Microbiology*, 167(6):343–349, 1997.
- [63] J Wang, D C Brune, and R E Blankenship. Effects of oxidants and reductants on the efficiency of excitation transfer in green photosynthetic bacteria. *Biochimica et biophysica acta*, 1015(3):457–463, 1990.

- [64] Soohee Chung, Gerhard Frank, Herbert Zuber, and Donald A. Bryant. Genes encoding two chlorosome components from the green sulfur bacteria *chlorobium vibrioforme* strain 8327D and *chlorobium tepidum*. *Photosynthesis Research*, 41(1):261–275, 1994.
- [65] Soohee Chung and D. A. Bryant. Characterization of *csmB* genes, encoding a 7.5-kDa protein of the chlorosome envelope, from the green sulfur bacteria *chlorobium vibrioforme* 8327D and *chlorobium tepidum*. *Archives of Microbiology*, 166(4):234–244, 1996.
- [66] Elena V Vassilieva, Veronica L Stirewalt, Christiane U Jakobs, Niels-Ulrik Frigaard, Kaori Inoue-Sakamoto, Melissa A Baker, Anne Sotak, and Donald A Bryant. Subcellular localization of chlorosome proteins in *chlorobium tepidum* and characterization of three new chlorosome proteins: CsmF, CsmH, and CsmX. *Biochemistry*, 41(13):4358–4370, 2002.
- [67] H. Li and D. A. Bryant. Envelope proteins of the CsmB/CsmF and CsmC/CsmD motif families influence the size, shape, and composition of chlorosomes in *chlorobaculum tepidum*. *Journal of Bacteriology*, 191(22):7109–7120, 2009.
- [68] T. Wade Johnson, Hui Li, Niels-Ulrik Frigaard, John H. Golbeck, and Donald A. Bryant. [2Fe-2S] proteins in chlorosomes: Redox properties of CsmI, CsmJ, and CsmX of the chlorosome envelope of *chlorobaculum tepidum*. *Biochemistry*, 52(8):1331–1343, 2013.
- [69] Reiner G. Feick and R. Clinton Fuller. Topography of the photosynthetic apparatus of *chloroflexus aurantiacus*. *Biochemistry*, 23(16):3693–3700, 1984.
- [70] Y Sakuragi, N Frigaard, K Shimada, and K Matsuura. Association of bacteriochlorophyll a with the CsmA protein in chlorosomes of the photosynthetic green filamentous bacterium *chloroflexus aurantiacus*. *Biochimica et biophysica acta*, 1413(3):172–180, 1999.
- [71] Donald A Bryant, Elena V Vassilieva, Niels-Ulrik Frigaard, and Hui Li. Selective protein extraction from *chlorobium tepidum* chlorosomes using detergents. evidence that CsmA forms multimers and binds bacteriochlorophyll a. *Biochemistry*, 41(48):14403–14411, 2002.
- [72] Gabriel A. Montano, Hsing-Mei Wu, Su Lin, Daniel C. Brune, and Robert E. Blankenship. Isolation and characterization of the b798 light-harvesting baseplate from the chlorosomes of *Chloroflexus aurantiacus*[†]. *Biochemistry*, 42(34):10246–10251, 2003.

- [73] Marie Ø. Pedersen, Juha Linnanto, Niels-Ulrik Frigaard, Niels Chr. Nielsen, and Mette Miller. A model of the protein–pigment baseplate complex in chlorosomes of photosynthetic green bacteria. *Photosynthesis Research*, 104(2-3):233–243, 2010.
- [74] Marie Ø. Pedersen, Lan Pham, Dorte B. Steensgaard, and Mette Miller. A reconstituted light-harvesting complex from the green sulfur bacterium *Chlorobium tepidum* containing CsmA and bacteriochlorophyll *a*[†]. *Biochemistry*, 47(5):1435–1441, 2008.
- [75] Yutaka Shibata, Yoshitaka Saga, Hitoshi Tamiaki, and Shigeru Itoh. Anisotropic distribution of emitting transition dipoles in chlorosome from chlorobium tepidum: fluorescence polarization anisotropy study of single chlorosomes. *Photosynthesis Research*, 100(2):67–78, 2009.
- [76] R. E. Fenna and B. W. Matthews. Chlorophyll arrangement in a bacteriochlorophyll protein from chlorobium limicola. *Nature*, 258(5536):573–577, 1975.
- [77] John M. Olson. The FMO protein. *Photosynthesis Research*, 80(1-3):181–187, 2004.
- [78] Gregory S. Engel, Tessa R. Calhoun, Elizabeth L. Read, Tae-Kyu Ahn, Tomas Mancal, Yuan-Chung Cheng, Robert E. Blankenship, and Graham R. Fleming. Evidence for wavelike energy transfer through quantum coherence in photosynthetic systems. *Nature*, 446(7137):782–786, 2007.
- [79] Dale E. Tronrud, Jianzhong Wen, Leslie Gay, and Robert E. Blankenship. The structural basis for the difference in absorbance spectra for the FMO antenna protein from various green sulfur bacteria. *Photosynthesis Research*, 100(2):79–87, 2009.
- [80] Maaïke T. W. Milder, Ben Brüggemann, Rienk Grondelle, and Jennifer L. Herek. Revisiting the optical properties of the FMO protein. *Photosynthesis Research*, 104(2-3):257–274, 2010.
- [81] Chadwick R. Larson, Chenda O. Seng, Lisa Lauman, Heather J. Matthies, Jianzhong Wen, Robert E. Blankenship, and James P. Allen. The three-dimensional structure of the FMO protein from pelodictyon phaeum and the implications for energy transfer. *Photosynthesis Research*, 107(2):139–150, 2010.
- [82] Wolfgang Nitschke, Ute Feiler, and A. William Rutherford. Photosynthetic reaction center of green sulfur bacteria studied by EPR. *Biochemistry*, 29(16):3834–3842, 1990.

- [83] M Büttner, D L Xie, H Nelson, W Pinther, G Hauska, and N Nelson. The photosystem i-like p840-reaction center of green s-bacteria is a homodimer. *Biochimica et biophysica acta*, 1101(2):154–156, 1992.
- [84] M Büttner, D L Xie, H Nelson, W Pinther, G Hauska, and N Nelson. Photosynthetic reaction center genes in green sulfur bacteria and in photosystem 1 are related. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 89(17):8135–8139, 1992.
- [85] Hervé-W Rémigy, Henning Stahlberg, Dimitrios Fotiadis, Shirley A Müller, Bettina Wolpensinger, Andreas Engel, Günter Hauska, and Georgios Tsiotis. The reaction center complex from the green sulfur bacterium chlorobium tepidum: a structural analysis by scanning transmission electron microscopy. *Journal of Molecular Biology*, 290(4):851 – 858, 1999.
- [86] G Hauska, T Schoedl, H Remigy, and G Tsiotis. The reaction center of green sulfur bacteria(1). *Biochimica et biophysica acta*, 1507(1-3):260–277, 2001.
- [87] Christine Hager-Braun, Dian-Lin Xie, Ursula Jarosch, Edelgard Herold, Michael Buettner, Rainer Zimmermann, Rainer Deutzmann, Guenter Hauska, and Nathan Nelson. Stable photobleaching of p840 in chlorobium reaction center preparations: Presence of the 42-kDa bacteriochlorophyll a protein and a 17-kDa polypeptide. *Biochemistry*, 34(29):9617–9624, 1995.
- [88] T. Swarthoff, K.M. van der Veek-Horsley, and J. Ames. The primary charge separation, cytochrome oxidation and triplet formation in preparations from the green photosynthetic bacterium prosthecochloris aestuarii. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 635(1):1–12, 1981.
- [89] Daisuke Seo and Hidehiro Sakurai. Purification and characterization of ferredoxin-NAD(P)(+) reductase from the green sulfur bacterium chlorobium tepidum. *Biochimica et biophysica acta*, 1597(1):123–132, 2002.
- [90] J. A. Maresca, A. G. Maqueo Chew, M. Ros Ponsati, N.-U. Frigaard, J. G. Ormerod, and D. A. Bryant. The bchU gene of chlorobium tepidum encodes the c-20 methyltransferase in bacteriochlorophyll c biosynthesis. *Journal of Bacteriology*, 186(9):2558–2566, 2004.
- [91] A. G. M. Chew, N.-U. Frigaard, and D. A. Bryant. Bacteriochlorophyllide c c-82 and c-121 methyltransferases are essential for adaptation to low light in chlorobaculum tepidum. *Journal of Bacteriology*, 189(17):6176–6184, 2007.

- [92] Hugo Scheer. *Chlorophylls*. CRC Press, Boca Raton, Fla, 1991.
- [93] Carolin Reiher. Zirkular Dichroismus Spektroskopie an Chlorosomen des grünen Schwefelbakteriums *Chlorobaculum Tepidum*. Bachelor thesis, Universität Bayreuth, 2013.
- [94] G Cohen-Bazire, N Pfennig, and R Kunisawa. The Fine Structure of Green Bacteria. *The Journal of cell biology*, 22:207–225, 1964.
- [95] Diana Loeb Cruden and Roger Y. Stanier. The characterization of chlorobium vesicles and membranes isolated from green bacteria. *Archive of Microbiologie*, 72(2):115–134, 1970.
- [96] J M Olson, R C Prince, and D C Brune. Reaction-center complexes from green bacteria. *Brookhaven symposia in biology*, 28:238–246, 1976.
- [97] L. Andrew Staehelin, Jochen R. Golecki, R. Clinton Fuller, and Gerhart Drews. Visualization of the supramolecular architecture of chlorosomes (chlorobium type vesicles) in freeze-fractured cells of *chloroflexus aurantiacus*. *Archives of Microbiology*, 119(3): 269–277, 1978.
- [98] R. J. Dorssen, H. Vasmel, and J. Ames. Pigment organization and energy transfer in the green photosynthetic bacterium *chloroflexus aurantiacus*. *Photosynthesis Research*, 9 (1-2):33–45, 1986.
- [99] R.J. van Dorssen, P.D. Gerola, J.M. Olson, and J. Ames. Optical and structural properties of chlorosomes of the photosynthetic green sulfur bacterium *chlorobium limicola*. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 848(1):77–82, 1986.
- [100] M I Bystrova, I N Malgosheva, and A A Krasnovskii. Molecular mechanism of self-assembly of aggregated bacteriochlorophyll c. *Molekuliarnaia biologii*, 13(3):582–594, 1979.
- [101] Kevin M. Smith, Lisa A. Kehres, and Jack Fajer. Aggregation of the bacteriochlorophylls c, d, and e. models for the antenna chlorophylls of green and brown photosynthetic bacteria. *Journal of the American Chemical Society*, 105(5):1387–1389, 1983.
- [102] Reiner G. Feick and R. Clinton Fuller. Topography of the photosynthetic apparatus of *chloroflexus aurantiacus*. *Biochemistry*, 23(16):3693–3700, 1984.

- [103] Alfred R. Holzwarth and Kurt Schaffner. On the structure of bacteriochlorophyll molecular aggregates in the chlorosomes of green bacteria. a molecular modelling study. *Photosynthesis Research*, 41(1):225–233, 1994.
- [104] Andreas Bresinsky and Eduard Strasburger. *Lehrbuch der Botanik*. Spektrum, Akad. Verl., Heidelberg [u.a.], 2008.
- [105] S. Ganapathy, G. T. Oostergetel, P. K. Wawrzyniak, M. Reus, A. Gomez Maqueo Chew, F. Buda, E. J. Boekema, D. A. Bryant, A. R. Holzwarth, and H. J. M. de Groot. Alternating syn-anti bacteriochlorophylls form concentric helical nanotubes in chlorosomes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 106(21):8525–8530, 2009.
- [106] V.I. Prokhorenko, D.B. Steensgaard, and A.R. Holzwarth. Exciton dynamics in the chlorosomal antennae of the green bacteria *chloroflexus aurantiacus* and *chlorobium tepidum*. *Biophysical Journal*, 79:2105–2120, 2000.
- [107] B.-J. van Rossum, D. B. Steensgaard, F. M. Mulder, G. J. Boender, K. Schaffner, and A. R. Holzwarth. A refined model of the chlorosomal antennae of the green bacterium *chlorobium tepidum* from proton chemical shift constraints obtained with high-field 2-d and 3-d MAS NMR dipolar correlation spectroscopy. *Biochemistry*, 40(6):1587–1595, 2001.
- [108] V.I. Prokhorenko, D.B. Steensgaard, and A.R. Holzwarth. Exciton theory for supramolecular chlorosomal aggregates: 1. aggregate size dependence of the linear spectra. *Biophysical Journal*, 85(5):3173–3186, 2003.
- [109] Jakub Psencik, Juan B. Arellano, Teemu P. Ikonen, Carles M. Borrego, Pasi A. Laurinmäki, Sarah J. Butcher, Ritva E. Serimaa, and Roman Tuma. Internal structure of chlorosomes from brown-colored *chlorobium* species and the role of carotenoids in their assembly. *Biophysical Journal*, 91(4):1433–1440, 2006.
- [110] Gert T. Oostergetel, Michael Reus, Aline Gomez Maqueo Chew, Donald A. Bryant, Egbert J. Boekema, and Alfred R. Holzwarth. Long-range organization of bacteriochlorophyll in chlorosomes of *chlorobium tepidum* investigated by cryo-electron microscopy. *FEBS Letters*, 581(28):5435–5439, 2007.
- [111] Juha M. Linnanto and Jouko E. I. Korppi-Tommola. Investigation on chlorosomal antenna geometries: tube, lamella and spiral-type self-aggregates. *Photosynthesis Research*, 96(3):227–245, 2008.

- [112] Catalin Didraga, Joost A. Klugkist, and Jasper Knoester. Optical properties of helical cylindrical molecular aggregates: The homogeneous limit. *The Journal of Physical Chemistry B*, 106(44):11474–11486, 2002.
- [113] Catalin Didraga and Jasper Knoester. Exchange narrowing in circular and cylindrical molecular aggregates: degenerate versus nondegenerate states. *Chemical Physics*, 275(1–3):307–318, 2002.
- [114] Catalin Didraga and Jasper Knoester. Absorption and dichroism spectra of cylindrical j aggregates and chlorosomes of green bacteria. *Journal of Luminescence*, 102-103:60–66, 2003.
- [115] Catalin Didraga and Jasper Knoester. Chiral exciton wave functions in cylindrical j aggregates. *The Journal of chemical physics*, 121(2):946–959, 2004.
- [116] Catalin Didraga and Jasper Knoester. Excitons in tubular molecular aggregates. *Journal of Luminescence*, 110(4):239–245, 2004.
- [117] Catalin Didraga and Jasper Knoester. Optical spectra and localization of excitons in inhomogeneous helical cylindrical aggregates. *The Journal of chemical physics*, 121(21):10687–10698, 2004.
- [118] Catalin Didraga, Audrius Pugzlys, P. Ralph Hania, Hans von Berlepsch, Koos Duppen, and Jasper Knoester. Structure, spectroscopy, and microscopic model of tubular carbocyanine dye aggregates. *The Journal of Physical Chemistry B*, 108(39):14976–14985, 2004.
- [119] Catalin Didraga. *Optical Properties of Frenkel Excitons in Cylindrical Molecular Aggregates*. PhD thesis, University of Groningen, 2004.
- [120] Yutaka Shibata, Yoshitaka Saga, Hitoshi Tamiaki, and Shigeru Itoh. Anisotropic distribution of emitting transition dipoles in chlorosome from chlorobium tepidum: fluorescence polarization anisotropy study of single chlorosomes. *Photosynthesis Research*, 100(2):67–78, 2009.
- [121] Shu Furumaki, Frantisek Vacha, Satoshi Habuchi, Yusuke Tsukatani, Donald A. Bryant, and Martin Vacha. Absorption linear dichroism measured directly on a single light-harvesting system: The role of disorder in chlorosomes of green photosynthetic bacteria. *Journal of the American Chemical Society*, 133(17):6703–6710, 2011.

- [122] Yuxi Tian, Rafael Camacho, Daniel Thomsson, Michael Reus, Alfred R. Holzwarth, and Ivan G. Scheblykin. Organization of bacteriochlorophylls in individual chlorosomes from *chlorobaculum tepidum* studied by 2-dimensional polarization fluorescence microscopy. *Journal of the American Chemical Society*, 133(43):17192–17199, 2011.
- [123] Shu Furumaki, Yu Yabiku, Satoshi Habuchi, Yusuke Tsukatani, Donald A. Bryant, and Martin Vacha. Circular dichroism measured on single chlorosomal light-harvesting complexes of green photosynthetic bacteria. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 3(23):3545–3549, 2012.
- [124] Jari Martiskainen, Juha Linnanto, Viivi Aumanen, Pasi Myllyperkiö, and Jouko Korppi-Tommola. Excitation energy transfer in isolated chlorosomes from *chlorobaculum tepidum* and *prosthecochloris aestuarii*. *Photochemistry and photobiology*, 88(3):675–683, June 2012.
- [125] Juha M. Linnanto and Jouko E. I. Korppi-Tommola. Exciton description of chlorosome to baseplate excitation energy transfer in filamentous anoxygenic phototrophs and green sulfur bacteria. *The Journal of Physical Chemistry B*, 117(38):11144–11161, 2013.
- [126] H. C. Wolf H. Haken. *Molekülphysik und Quantenchemie*. Springer-Verlag, 1998.
- [127] M. Born and R. Oppenheimer. Zur quantentheorie der molekeln. *Annalen der Physik*, 389(20):457–484, 1927.
- [128] Jürgen Baier. *Untersuchung der Strukturodynamik einzelner Proteine bei tiefen Temperaturen*. PhD thesis, Universität Bayreuth, 2010.
- [129] Clemens Hofmann. *Pigment-Pigment Interactions and Protein Dynamics in Light-Harvesting Complexes: a Single-Molecule Study*. PhD thesis, University of Bayreuth, 2004.
- [130] Martin Friedrich Richter. *Symmetry Matters For the Electronic Structure of Light-Harvesting Complexes*. PhD thesis, University of Bayreuth, 2008.
- [131] Beate Röder. *Einführung in die molekulare Photobiophysik*. Teubner, Stuttgart, 1999.
- [132] Ralf Kunz, Köu Timpmann, June Southall, Richard J. Cogdell, Arvi Freiberg, and Jürgen Köhler. Exciton self trapping in photosynthetic Pigment-Protein complexes studied by single-molecule spectroscopy. *The Journal of Physical Chemistry B*, 116(36):11017–11023, 2012.

- [133] R. Loudon. *The Quantum Theory of Light*. Oxford University Press, New York, 2 edition, 1983.
- [134] T. Basche, S. Kummer, and C. Bräuchle. Excitation and emission spectroscopy and quantum optical measurements. In T. Basche, W. E. Moerner, M. Orrit, and U. P. Wild, editors, *Single-Molecule Optical Detection, Imaging and Spectroscopy*, pages 31–67. VCH Verlagsgesellschaft mbH, Weinheim, Germany, 2007.
- [135] Josef Friedrich and Dietrich Haarer. Photochemical hole burning: A spectroscopic study of relaxation processes in polymers and glasses. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 23(2):113–140, 1984.
- [136] W. E. Moerner and Thomas Basche. Optical spectroscopy of single impurity molecules in solids. *Angewandte Chemie International Edition in English*, 32(4):457–476, 1993.
- [137] J. Frenkel. On the transformation of light into heat in solids. I. *Physical Review*, 37(1): 17–44, 1931.
- [138] J. Frenkel. On the transformation of light into heat in solids. II. *Physical Review*, 37(10): 1276–1294, 1931.
- [139] Jasper Knoester and Vladimir M. Agranovich. Frenkel and charge-transfer excitons in organic solids. In *Thin Films and Nanostructures*, volume 31, pages 1–96. Elsevier, 2003.
- [140] Frank Würthner, Theo E. Kaiser, and Chantu R. Saha-Möller. J-aggregates: From serendipitous discovery to supramolecular engineering of functional dye materials. *Angewandte Chemie International Edition*, 50(15):3376–3410, 2011.
- [141] H. Yamagata and F. C. Spano. Interplay between intrachain and interchain interactions in semiconducting polymer assemblies: The HJ-aggregate model. *The Journal of Chemical Physics*, 136(18):184901, 2012.
- [142] Leon van Dijk, Frank C. Spano, and Peter A. Bobbert. Theory of exciton dynamics in molecular aggregates in presence of polaronic effects. *Chemical Physics Letters*, 529: 69–73, 2012.
- [143] Roel Tempelaar, Anna Stradomska, Jasper Knoester, and Frank C. Spano. Anatomy of an exciton: Vibrational distortion and exciton coherence in h- and j-aggregates. *The Journal of Physical Chemistry B*, 117(1):457–466, 2013.

- [144] Robin M. Hochstrasser. Exciton band structure and properties of a real linear chain in a molecular crystal. *The Journal of Chemical Physics*, 56(12):5945, 1972.
- [145] Richard J. Cogdell, Andrew Gall, and Jürgen Köhler. The architecture and function of the light-harvesting apparatus of purple bacteria: from single molecules to in vivo membranes. *Quarterly Reviews of Biophysics*, 39(03):227, 2006.
- [146] Erik A. Bloemsma. *Exciton localization and optical spectroscopy of linear and tubular J-aggregates*. PhD thesis, University of Groningen, 2013.
- [147] P. Salvadori F. Ciardelli. *Fundamental Aspects and Recent Developments in Optical Rotatory Dispersion and Circular Dichroism*. Heyden and Son Ltd., 1973.
- [148] Charles R. Cantor. *Techniques for the study of biological structure and function. Their Biophysical chemistry ; pt. 2*. W. H. Freeman, San Francisco, 1980.
- [149] Martin Klessinger and Josef Michl. *Excited states and photochemistry of organic molecules*. VCH, New York, 1995.
- [150] Jan Amesz. *Biophysical techniques in photosynthesis*. Number v. 3 in Advances in photosynthesis. Boston : Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, 1996.
- [151] Gyozo Garab and Herbert Amerongen. Linear dichroism and circular dichroism in photosynthesis research. *Photosynthesis Research*, 101(2-3):135–146, 2009.
- [152] Ralf Kunz. Untersuchung des zirkulardichroismus von pigment-protein-komplexen. Diplomarbeit, Universität Bayreuth, 2008.
- [153] Marc Jendry, Thijs J. Aartsma, and Jürgen Köhler. Fluorescence-excitation spectra from individual chlorosomes of the green sulphur bacterium chlorobaculum tepidum. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, pages 3745–3750, 2012.
- [154] Ward P.F. de Ruijter. *PhD Thesis*. PhD thesis, University of Leiden, Department of Biophysics, 2005.
- [155] Marc Jendry. Spektroskopie an Lichtsammelkomplexen grüner Bakterien. Diplomarbeit, Universität Bayreuth, 2009.
- [156] L A Staehelin, J R Golecki, and G Drews. Supramolecular organization of chlorosomes (chlorobium vesicles) and of their membrane attachment sites in chlorobium limicola. *Biochimica et biophysica acta*, 589(1):30–45, 1980.

- [157] Jan Erik Loefroth. Time-resolved emission spectra, decay-associated spectra, and species-associated spectra. *The Journal of Physical Chemistry*, 90(6):1160–1168, 1986.
- [158] Rienk van Grondelle, Jan P. Dekker, Tomas Gillbro, and Villy Sundstrom. Energy transfer and trapping in photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Bioenergetics*, 1187(1):1–65, 1994.
- [159] Ivo H M van Stokkum, Delmar S Larsen, and Rienk van Grondelle. Global and target analysis of time-resolved spectra. *Biochimica et biophysica acta*, 1657(2-3):82–104, 2004.
- [160] Florian Spreitler, Michael Sommer, Mukundan Thelakkat, and Jürgen Köhler. Conformational dynamics of di-(perylene bisimide acrylate) and its footprints in steady-state, time-resolved, and fluorescence-correlation spectroscopy. *Physical Chemistry Chemical Physics*, 14(22):7971, 2012.
- [161] Lisa Maria Wohlrab. Spektroskopie einzelner lichtsammelkomplexe von grünen schwefelbakterien. Master’s thesis, Universität Bayreuth, 2013.
- [162] Niels-Ulrik Frigaard, Kim L. Larsen, and Raymond P. Cox. Spectrochromatography of photosynthetic pigments as a fingerprinting technique for microbial phototrophs. *FEMS Microbiology Ecology*, 20(2):69–77, 1996.
- [163] D. M. Eisele, C. W. Cone, E. A. Bloemsma, S. M. Vlaming, C. G. F. van der Kwaak, R. J. Silbey, M. G. Bawendi, J. Knoester, J. P. Rabe, and D. A. Vanden Bout. Utilizing redox-chemistry to elucidate the nature of exciton transitions in supramolecular dye nanotubes. *Nature Chemistry*, 4(8):655–662, 2012.
- [164] Z.G. Fetisova and K. Mairing. Experimental evidence of oligomeric organization of antenna bacteriochlorophyll c in green bacterium chloroflexus aurantiacus by spectral hole burning. *FEBS Letters*, 307(3):371–374, 1992.
- [165] Z.G. Fetisova and K. Mairing. Spectral hole burning study of intact cells of green bacterium chlorobium limicola. *FEBS Letters*, 323(1-2):159–162, 1993.
- [166] Detlef Gronau. The spiral of theodorus. *The American Mathematical Monthly*, 111(3):230, 2004.
- [167] Yoshitaka Saga, Tetsuichi Wazawa, Tadashi Mizoguchi, Yoshiharu Ishii, Toshio Yanagida, and Hitoshi Tamiaki. Spectral heterogeneity in single light-harvesting chlorosomes

from green sulfur photosynthetic bacterium *chlorobium tepidum*. *Photochemistry and photobiology*, 75(4):433–436, 2002.

- [168] Yoshitaka Saga, Tetsuichi Wazawa, Tadashi Mizoguchi, Yoshiharu Ishii, Toshio Yanagida, and Hitoshi Tamiaki. Spectral heterogeneity in single light-harvesting chlorosomes from green sulfur photosynthetic bacterium *chlorobium tepidum*. *Photochemistry and Photobiology*, 75(4):433–436, 2007.

Veröffentlichungen

- Marc Jendry, Thijs J. Aartsma, and Jürgen Köhler. Fluorescence-excitation spectra from individual chlorosomes of the green sulphur bacterium *chlorobaculum tepidum*. *The Journal of Physical Chemistry Letters*, 3(24): 3745-3750, 2012.
- Marc Jendry, Thijs J. Aartsma, and Jürgen Köhler. Insights into the Excitonic States of Individual Chlorosomes from *Chlorobaculum tepidum*. *Biophysical Journal*, 106(9): 1921-1927, 2014.

Erklärung

Hiermit erkläre ich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe. Die Arbeit wurde in gleicher oder ähnlicher Form keiner anderen Prüfungsbehörde zur Erlangung eines akademischen Grades vorgelegt. Ich habe noch keinen Promotionsversuch unternommen.

Desweiteren erkläre ich, dass ich Hilfe von gewerblichen Promotionsberatern bzw. -vermittlern oder ähnlichen Dienstleistern weder bisher in Anspruch genommen habe noch künftig in Anspruch nehmen werde.

Bayreuth, den 20. Mai 2014

Marc Jendrny